

**POTENSI BAKTERI SERASAH DAUN KOPI DI UB *FOREST*  
SEBAGAI PENGENDALI PENYAKIT BUSUK LUNAK  
PADA UMBI KENTANG**

**Oleh  
SITI ROCHANIYAH**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS PERTANIAN  
MALANG**

**2018**

**POTENSI BAKTERI SERASAH DAUN KOPI DI UB *FOREST*  
SEBAGAI PENGENDALI PENYAKIT BUSUK LUNAK  
PADA UMBI KENTANG**

**OLEH**

**SITI ROCHANIYAH**

**145040200111005**

**PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI  
MINAT PERLINDUNGAN TANAMAN**

**SKRIPSI**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh**

**Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS PERTANIAN  
JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN  
MALANG**

**2018**

### PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa segala pernyataan dalam skripsi ini merupakan hasil penelitian saya sendiri, dengan bimbingan komisi pembimbing. Skripsi ini tidak pernah diajukan untuk memperoleh gelar di perguruan tinggi manapun dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang dengan jelas ditunjukkan rujukannya dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, 19 Juli 2018

Siti Rochaniyah



## LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Penelitian : Potensi Bakteri Serasah Daun Kopi Di UB Forest sebagai Pengendali Penyakit Busuk Lunak pada Umbi Kentang

Nama Mahasiswa : Siti Rochaniyah  
 NIM : 145040200111005  
 Jurusan : HPT  
 Program Studi : Agroekoteknologi  
 Laboratorium : Bakteriologi

Disetujui

Pembimbing Utama,

Pembimbing Kedua,




Lugman Qurata Aini, SP., MSi., PhD.  
 NIP. 19720919 199802 1 001

Restu Rizkyta Kusuma, SP., MSc.  
 NIK. 201409880504 2 001

Diketahui  
 Ketua Jurusan



Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS.  
 NIP. 1955 1018 198601 2 001

Tanggal Persetujuan:



Sesungguhnya Allah tidak akan mengubah nasib suatu kaum kecuali kaum itu sendiri yang mengubah apa-apa yang pada diri mereka  
(QS. Ar-Ra'd: 11)

Allah akan meninggikan (derajat) orang-orang yang beriman di antaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat. Dan Allah Maha Mengetahui atas apa yang kamu kerjakan  
(QS. Al-Mujadalah : 11)

Sesungguhnya jika kamu bersyukur, pasti Kami akan menambah (nikmat) kepadamu, dan jika kamu mengingkari (nikmat-Ku), maka sesungguhnya azab-Ku sangat pedih  
(QS. Ibrahim : 7)



Skripsi ini saya persembahkan untuk kedua orang tua dan kakakku tercinta yang tak hentinya memberi dan menyayangi, adik-adikku yang tersayang serta para generasi yang membutuhkan informasi dalam skripsi ini.

## RINGKASAN

**Siti Rochaniyah. 145040200111005. Potensi Bakteri Serasah Daun Kopi di UB Forest sebagai Pengendali Penyakit Busuk Lunak pada Umbi Kentang. Di bawah bimbingan Luqman Qurata Aini, SP. M.Si. Ph.D. sebagai Dosen Pembimbing Utama dan Restu Rizkyta Kusuma, SP. M.Sc. sebagai Dosen Pembimbing Pendamping.**

---

Tanaman kentang (*Solanum tuberosum* L.) merupakan salah satu jenis tanaman hortikultura dengan nilai ekonomis tinggi, namun produksi masih belum optimal. Salah satu penyebab rendahnya produksi kentang yaitu adanya serangan penyakit busuk lunak disebabkan oleh patogen *Erwinia* sp. Pengendalian penyakit yang ramah lingkungan dapat menggunakan bakteri antagonis melalui eksplorasi. Sumber eksplorasi bakteri antagonis salah satunya serasah tanaman. UB Forest merupakan hutan pendidikan milik Universitas Brawijaya yang memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi dan diperkirakan memiliki jumlah mikroba antagonis yang tinggi juga. Sehingga dilakukan penelitian untuk memperoleh bakteri serasah daun kopi dari kawasan UB Forest yang bersifat antagonis terhadap bakteri patogen *Erwinia* sp. pada umbi kentang dan mampu mengendalikan penyakit busuk lunak pada kentang.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya mulai bulan Januari 2017 sampai dengan Juni 2018. Penelitian terdiri dari beberapa tahapan: (1) eksplorasi bakteri serasah daun kopi di kawasan UB Forest (2) uji patogenesitas bakteri *Erwinia* sp. (3) seleksi bakteri antagonis serasah daun kopi dari kawasan UB Forest terhadap patogen *Erwinia* sp. (4) uji hipersensitif (5) pengujian antagonis bakteri serasah daun kopi dari kawasan UB Forest terhadap patogen *Erwinia* sp. (6) uji penghambatan perkembangan penyakit busuk lunak oleh bakteri antagonis serasah daun kopi dari kawasan UB Forest (7) karakterisasi dan identifikasi bakteri serasah daun kopi dari kawasan UB Forest yang bersifat antagonis terhadap patogen *Erwinia* sp.

Hasil seleksi 32 isolat bakteri serasah daun kopi diperoleh 11 isolat bakteri bersifat antagonis terhadap bakteri patogen *Erwinia* sp. dan empat isolat memiliki indeks penghambatan yang lebih tinggi yaitu isolat 13, 24, 31 dan 32. Dua isolat bakteri serasah daun kopi dari UB Forest yang bersifat antagonis *Erwinia* sp. memiliki indeks penghambatan lebih tinggi daripada perlakuan streptomisin sulfat 20% secara *in vitro* yaitu isolat 31 dan 32. Isolat bakteri 31 dan 32 yang menunjukkan kemampuan lebih baik dalam penekanan penyakit busuk lunak pada umbi kentang bila dibandingkan dengan perlakuan kontrol bakterisida streptomisin sulfat 20%. Hasil identifikasi secara morfologi, fisiologi dan biokimia menunjukkan isolat bakteri 13 dan 24 termasuk genus *Pantoea* sp. sedangkan isolat bakteri 31 dan 32 termasuk genus *Erwinia* sp.



## SUMMARY

**Siti Rochaniyah. 145040200111005. The Potency of Bacteri Coffee Leaf Litter from UB Forest as Controller Soft Root on Potato Tubers. Supervised by Luqman Qurata Aini, SP. M.Si. Ph.D. and Restu Rizkyta Kusuma, SP. M.Sc.**

---

Potato plant (*Solanum tuberosum* L.) is one type of horticultural crops with high economic value, but the production is still not optimal. One of the causes of low potato production is the presence of soft rot disease caused by *Erwinia* sp. The control can use antagonistic bacteria. An exploratory source of antagonistic bacteria is plant litter. UB Forest is an educational forest belonging to Brawijaya University which has high biodiversity and is estimated to have high antagonistic microbial. So the research's goal to obtain litter bacteria from UB Forest which antagonist to *Erwinia* sp. on potato tubers and able to control soft rot disease in potatoes.

The research was conducted at Plant Diseases Laboratory, Department of Plant Pest and Diseases, Faculty of Agriculture, University of Brawijaya from January 2017 until June 2018. The research consisted of several steps: (1) exploration of litter bacteria in UB Forest (2) pathogenecity test (3) selection of antagonistic of bacteria coffee leaf litter from UB Forest to *Erwinia* sp. (4) hypersensitive test (5) testing of bacteria antagonist of coffee leaf litter from UB Forest area against *Erwinia* sp. (6) test of inhibition of the development of soft rot disease by antagonistic bacteria of coffee leaf litter from UB Forest (7) characterization and identification of antagonist bacteria from UB Forest area which is antagonistic to *Erwinia* sp.

Selection of 32 bacterial isolates of coffee leaf litter obtained 11 bacterial isolates were antagonistic to pathogenic bacteria *Erwinia* sp. and four isolates had a higher inhibition index of 13, 24, 31 and 32 isolates. Two isolates of UB Forest coffee litter bacteria were antagonistic *Erwinia* sp. has a higher inhibitory index than 20% in vitro streptomycin sulphate treatment are 31 and 32 isolates. Bacteria isolates 31 and 32 show better ability in suppression of soft rot disease in potato tubers when compared with 20% streptomycin sulfate bactericide control treatment. The results of morphological, physiological and biochemical identification showed bacterial isolates 13 and 24 including the genus *Pantoea* sp. whereas bacterial isolates 31 and 32 belong to the genus *Erwinia* sp.



## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, atas limpahan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga laporan penelitian yang berjudul “Potensi Bakteri Serasah Daun Kopi di UB *Forest* sebagai Pengendali Penyakit Busuk Lunak pada Umbi Kentang”. Disusun dalam rangka memenuhi kewajiban Program Studi Agroekoteknologi Universitas Brawijaya untuk menyelesaikan program sarjana (S1).

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada berbagai pihak :

1. Kedua orang tua, kakak, dan adik-adikku atas doa, cinta, dan kasih sayang serta dukungan yang telah diberikan.
2. Luqman Qurata Aini, SP. MP. Ph.D. dan Restu Rizkyta Kusuma, SP. M.Sc. selaku dosen pembimbing yang selalu sabar, memberikan wawasan, dukungan, motivasi, arahan dan kesabarannya dalam membimbing penulis.
3. Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS. selaku Ketua Jurusan Hama dan penyakit Tumbuhan (HPT), Dr. Ir. Syamsudin Djauhari, MS. SDH. selaku Ketua Laboratorium Penyakit Tumbuhan serta seluruh dosen dan karyawan jurusan HPT Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya atas bimbingan, fasilitas, dan bantuan yang telah diberikan.
4. Mahasiswa bimbingan skripsi Luqman Qurata Aini, SP. MP. PhD. dan Restu Rizkyta Kusuma, SP. M.Sc angkatan 2017, teman-teman seperjuangan minat bakteriologi dan penghuni Laboratorium Penyakit Tumbuhan 1 (Bakteri).
5. Pemerintah yang telah memberikan beasiswa Bidikmisi sebagai bantuan biaya pendidikan sehingga penulis dapat mengenyam pendidikan di perguruan tinggi hingga selesai.

Semoga kegiatan penelitian yang telah dilaksanakan memperoleh hasil yang bermanfaat bagi banyak pihak dan memberikan sumbangsih untuk kemajuan ilmu pengetahuan.

Malang, Juli 2018

Penulis

## RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir di Kota Magelang pada tanggal 29 Oktober 1995 dari pasangan Bapak Ahmad Warsito dan Ibu Sumiyati. Penulis merupakan anak kedua dari empat bersaudara. Riwayat pendidikan penulis pernah sekolah dasar di SDN Beteng 1 (2002-2008), sekolah menengah pertama di SMPN 1 Salaman (2008-2011), sekolah menengah atas di SMA Negeri 1 Salaman (2011-2014), kemudian tahun 2014 Penulis terdaftar sebagai mahasiswi Strata-1 Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi (SBMPTN).

Selama menjadi mahasiswa penulis mengikuti organisasi di ruang lingkup Universitas Brawijaya. Organisasi yang diikuti yaitu CADS (*Center for Agriculture Development Studies*) sebagai Kepala Departemen Sosial Masyarakat, dan FORDI MAPELAR (Forum Diskusi dan Penalaran Mahasiswa) sebagai anggota. Kepanitiaan yang pernah diikuti LKTI Nasional Ganesa sebagai divisi acara, Pengabdian Masyarakat CADS sebagai bendahara, Studi Lapangan CADS sebagai divisi konsumsi dan kesehatan, POSTER FP UB sebagai Disiplin Mahasiswa. Penulis juga pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Dasar Perlindungan Tanaman (2014/2015, 2015/2016, 2016/2017), Manajemen Agroekosistem (2016/2017), Hama dan Penyakit Penting Tanaman (2016/2017), dan Pertanian Berlanjut (2016/2017).

Prestasi yang pernah diraih penulis yaitu juara 2 PKM Maba Rektor Cup (2014), lolos pendanaan Program Kreativitas Mahasiswa bidang Penelitian (PKM-P) Ristekdikti (2015) dengan judul “Rekayasa Teknologi Tablet Fumigan Berbahan Aktif Senyawa Limonoida Daun Jeruk Purut sebagai Upaya Pengendalian Hama Gudang *Sitophylus oryzae*” serta penerima beasiswa Bidikmisi. Pada tahun 2017 penulis pernah magang kerja di Balai Karantina Pertanian Kelas II Yogyakarta Wilayah Kerja Bandara Adi Sumarmo.

## DAFTAR ISI

RINGKASAN .....	i
SUMMARY .....	ii
KATA PENGANTAR .....	iii
RIWAYAT HIDUP .....	iv
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR TABEL .....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	viii
I. PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Hipotesis Penelitian .....	3
1.5 Manfaat Penelitian .....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA .....	5
2.1 Tanaman Kentang ( <i>Solanum tuberosum</i> L.) .....	5
2.2 Penyakit Busuk Lunak disebabkan oleh <i>Erwinia</i> sp .....	6
2.3 Keanekaragaman Hayati pada Hutan .....	8
2.4 Kawasan UB <i>Forest</i> .....	9
2.5 Bakteri pada Serasah .....	10
III. METODE PENELITIAN .....	12
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	12
3.2 Alat dan Bahan .....	12
3.3 Metode Penelitian .....	12
3.4 Pelaksanaan Penelitian .....	13
3.5 Variabel Pengamatan .....	19

3.6 Analisis Data.....	20
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	21
4.1 Uji Patogenesitas <i>Erwinia</i> sp. pada Umbi Kentang.....	21
4.2 Seleksi Bakteri Serasah Daun Kopi yang Bersifat Antagonis terhadap Patogen <i>Erwinia</i> sp. ....	22
4.3 Uji Hipersensitif.....	23
4.4 Uji Penghambatan Pertumbuhan <i>Erwinia</i> sp. oleh Bakteri serasah daun kopi dari kawasan UB Forest dalam Cawan Petri .....	24
4.5 Uji Penekanan Perkembangan Penyakit Busuk Lunak oleh Bakteri Antagonis Serasah Daun Kopi pada Umbi Kentang.....	26
4.6 Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Hasil Seleksi .....	28
V. PENUTUP .....	35
5.1 Kesimpulan.....	35
5.2 Saran.....	35
DAFTAR PUSTAKA .....	36
LAMPIRAN.....	41

## DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Indeks penghambatan 32 isolat bakteri serasah daun kopi. ....	22
2.	Hasil uji penghambatan pertumbuhan <i>Erwinia</i> sp. ....	24
3.	Rerata massa busuk lunak umbi kentang .....	27
4.	Karakteristik morfologi, fisiologi dan biokimia bakteri antagonis .....	29

## Lampiran

1.	Analisis ragam indeks penghambatan empat isolat bakteri antagonis serasah daun kopi setelah inokulasi 24 jam .....	42
2.	Analisis ragam indeks penghambatan empat isolat bakteri antagonis serasah daun kopi setelah inokulasi 48 jam .....	42
3.	Analisis ragam indeks penghambatan empat isolat bakteri antagonis serasah daun kopi setelah inokulasi 72 jam .....	42
4.	Analisis ragam massa busuk lunak umbi kentang pada uji penekanan penyakit busuk lunak setelah inokulasi 7 hari .....	42

## DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Gejala <i>Erwinia</i> sp.pada umbi kentang .....	7
2.	Identifikasi bakteri hingga tingkat genus .....	18
3.	Hasil uji busuk lunak patogen <i>Erwinia</i> sp.pada umbi kentang .....	21
4.	Hasil pengujian hipersensitif .....	23
5.	Zona hambat yang dihasilkan isolat bakteri antagonis .....	25
6.	Hasil uji penekanan penyakit busuk lunak pada umbi kentang .....	26
7.	Karakteristik morfologi koloni tunggal.....	28
8.	Hasil uji KOH .....	30
9.	Hasil pewarnaan gram bakteri.....	31
10.	Hasil pengujian oksidatif fermentatif bakteri antagonis .....	31
11.	Koloni bakteri antagonis pada media YDC .....	32

### Lampiran

1.	Hasil purifikasi <i>Erwinia</i> sp. pada media <i>nutrient agar</i> .....	41
2.	Hasil perbanyakan 32 isolat bakteri serasah daun kopi .....	41
3.	Hasil pewarnaan gram bakteri antagonis .....	43
4.	Hasil uji KOH bakteri antagonis .....	43
5.	Hasil uji oksidatif fermentatif bakteri antagonis .....	44
6.	Koloni bakteri antagonis pada media YDC .....	44
7.	Hasil pengujian hipersensitif.....	45
8.	Hasil uji penekanan penyakit busuk lunak pada umbi kentang .....	45

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Tanaman kentang (*Solanum tuberosum* L.) merupakan salah satu jenis tanaman hortikultura dengan nilai ekonomis tinggi. Hal tersebut karena kentang termasuk komoditas pangan dunia, sedangkan di Indonesia tanaman kentang merupakan jenis tanaman hortikultura dengan nilai penting setelah bawang dan cabai. Berdasarkan data yang dikeluarkan oleh Badan Pusat Statistik (2017) tercatat bahwa produksi kentang di Indonesia pada tahun 2016 mencapai 1.213.038 ton dengan 227.996 ton berasal dari produksi wilayah Jawa Timur.

Namun upaya untuk meningkatkan produksi tanaman kentang di Indonesia mengalami berbagai kendala terbukti dari data Badan Pusat Statistik (2017) pada tahun 2015 produksi kentang di Indonesia mencapai 18,20 ton/ha sedangkan tahun 2016 sebesar 18,25 ton/ha, produktivitasnya hanya meningkat 0,05 ton/ha saja. Salah satu penyebabnya menurut Semangun (2006) dan Priou *et al.* (2011), penyakit tanaman merupakan salah satu kendala dalam budidaya kentang di Indonesia. Keadaan lahan kentang di Indonesia umumnya sudah terkontaminasi patogen. Hal ini ditunjukkan dengan selalu dijumpainya penyakit pada setiap musim tanam, sehingga lahan tersebut tidak mampu memberikan hasil optimum. Sebagian besar patogen tersebut umumnya bersifat tular-tanah, yang mampu hidup, menyebar, dan bertahan dalam jangka waktu lama di dalam tanah. Salah satu penyakit tular tanah utama pada tanaman kentang yaitu penyakit busuk lunak bakteri yang disebabkan oleh *Erwinia* sp., bakteri ini memiliki kisaran inang yang luas dan dapat menginfeksi tanaman baik di lapangan maupun penyimpanan (Gunawan, 2006). Gejala yang ditimbulkan akibat serangan patogen *Erwinia* sp. pada umbi kentang yaitu umbi berwarna coklat hingga kehitaman, lunak, berlendir dan memiliki bau busuk yang menyengat. Kehilangan hasil akibat penyakit busuk lunak pada tanaman kentang mencapai 98,8% (Prajapat *et al.*, 2013). Kerugian ekonomi yang tinggi akibat patogen *Erwinia* sp. mengharuskan adanya upaya pengendalian.

Salah satu pengendalian yang mampu menjaga kestabilan produksi tanaman kentang dan tidak memberi dampak negatif terhadap lingkungan yaitu pengendalian hayati. Upaya pengendalian hayati adalah suatu tindakan yang



bertujuan mereduksi kepadatan inokulum atau aktivitas patogen sehingga tidak menimbulkan gejala pada tanaman, dengan menggunakan satu atau lebih agens pengendali hayati melalui manipulasi lingkungan, inang atau antagonistik (Cook, 1991). Mikroba antagonis atau agens pengendali hayati penyakit tanaman adalah jasad renik yang diperoleh dari alam, baik berupa bakteri, cendawan, actinomycetes maupun virus yang dapat menekan, menghambat atau memusnahkan organisme pengganggu tanaman (Tombe, 2002). Bakteri seperti *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescens* diketahui memiliki potensi sebagai agens pengendali hayati beberapa patogen tumbuhan (Habazar dan Yaherwandi, 2006). Mekanisme agens pengendali hayati dalam melemahkan atau membunuh patogen tanaman adalah dengan memparasit patogen secara langsung, memproduksi antibiotik, berkompetisi dalam ruang dan nutrisi, memproduksi enzim untuk melawan komponen sel patogen dan menginduksi respon ketahanan tanaman (Agrios, 2005).

Bakteri antagonis yang dapat digunakan sebagai agens pengendali hayati dapat diisolasi dari serasah atau bahan organik yang sudah terdekomposisi, salah satunya dari serasah daun kopi di kawasan UB *Forest*. Keanekaragaman hayati yang tinggi di UB *Forest* diperkirakan juga meningkatkan keragaman agens pengendali hayati salah satunya bakteri antagonis. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui potensi bakteri dari serasah daun kopi di kawasan UB *Forest* sebagai pengendali penyakit busuk lunak yang disebabkan oleh *Erwinia* sp. pada umbi kentang.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah :

1. Apakah ditemukan bakteri pada serasah daun kopi dari kawasan UB *Forest*?
2. Bagaimana potensi bakteri serasah daun kopi dari kawasan UB *Forest* dalam menghambat dan mengendalikan perkembangan penyakit busuk lunak pada umbi kentang?
3. Apakah terdapat bakteri serasah daun kopi dari kawasan UB *Forest* yang bersifat antagonis terhadap bakteri patogen *Erwinia* sp. penyebab penyakit busuk lunak pada umbi kentang?

4. Bagaimana karakterisasi bakteri serasah daun kopi dari kawasan UB *Forest* yang bersifat antagonis terhadap bakteri patogen *Erwinia* sp. pada umbi kentang?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mendapatkan bakteri yang berasal dari serasah daun kopi di kawasan UB *Forest*.
2. Mengetahui potensi bakteri serasah daun kopi dari kawasan UB *Forest* dalam menghambat dan mengendalikan perkembangan penyakit busuk lunak pada umbi kentang.
3. Mendapatkan bakteri serasah daun kopi dari kawasan UB *Forest* yang bersifat antagonis terhadap bakteri patogen *Erwinia* sp. pada umbi kentang.
4. Mengidentifikasi karakterisasi bakteri serasah daun kopi dari kawasan UB *Forest* yang bersifat antagonis terhadap bakteri patogen *Erwinia* sp. pada umbi kentang.

### 1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang diajukan dari penelitian ini yaitu :

1. Terdapat bakteri pada serasah daun kopi di kawasan UB *Forest*
2. Terdapat bakteri serasah daun kopi dari kawasan UB *Forest* yang berpotensi menghambat dan mengendalikan perkembangan penyakit busuk lunak pada umbi kentang.
3. Terdapat bakteri serasah daun kopi dari kawasan UB *Forest* yang bersifat antagonis terhadap bakteri patogen *Erwinia* sp. pada umbi kentang.
4. Bakteri serasah daun kopi dari kawasan UB *Forest* yang bersifat antagonis terhadap bakteri patogen *Erwinia* sp. pada umbi kentang dapat diidentifikasi hingga tingkat genus.

### 1.5 Manfaat Penelitian

Bakteri serasah daun kopi dari kawasan UB *Forest* yang mampu menekan penyakit busuk lunak yang disebabkan oleh *Erwinia* sp. pada umbi kentang berpotensi sebagai alternatif pengendalian penyakit busuk lunak yang ramah lingkungan. Potensi antagonis bakteri serasah daun kopi dari kawasan UB *Forest* dapat dikembangkan sebagai agens antagonis pengendali penyakit busuk lunak pada umbi kentang yang disebabkan oleh bakteri *Erwinia* sp.



## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum* L.)

Pertumbuhan dan produksi tanaman kentang optimal di daerah bersuhu dingin. Daerah yang cocok untuk menanam kentang adalah dataran tinggi atau daerah pegunungan dengan ketinggian 1000-3000 mdpl. Pada dataran medium, tanaman kentang dapat di tanam pada ketinggian 300-700 mdpl. Suhu tanah optimum untuk pembentukan umbi yang normal berkisar antara 15-18°C. Pertumbuhan umbi akan sangat terhambat apabila suhu tanah kurang dari 10°C dan lebih dari 30°C (Samadi, 2007). Kelembaban udara yang cocok untuk pertumbuhan tanaman kentang berkisar 80-90%. Tanaman kentang memerlukan banyak air, terutama pada stadia berbunga, namun tidak dalam kondisi hujan lebat yang berlangsung terus-menerus. Karena hujan yang lebat berkepanjangan mampu menghambat pancaran sinar matahari sehingga berpengaruh juga pada pembentukan umbi menjadi kecil dan produksinya rendah (Sunarjono, 2007).

Tanaman kentang mampu produktif pada jenis tanah ringan yang mengandung sedikit pasir dan kaya bahan organik. Salah satu contohnya jenis tanah Andosol (vulkanik) memiliki kandungan unsur hara sedang sampai tinggi karena mengandung abu gunung berapi dan tanah lempung berpasir. Jenis tanah mempengaruhi kandungan karbohidrat umbi kentang, pada umumnya tanaman kentang yang dikembangkan di tanah berlempung mempunyai kandungan karbohidrat lebih tinggi dan rasanya lebih enak (Sunarjono, 2007). Dalam sistematika tumbuhan, tanaman kentang digolongkan ke dalam Kingdom Plantae, Divisio Spermatophyta, Subdivisio Angiospermae, Kelas Dicotyledoneae, Ordo Solanales, Familia Solanaceae, Genus *Solanum*, Spesies *Solanum tuberosum* L. (Setiadi, 2009).

*Solanum tuberosum* atau yang lebih dikenal sebagai kentang merupakan tanaman semusim yang berbentuk rumput atau menjalar. Tanaman ini mampu berbunga, berbuah, berbiji, serta mampu membentuk umbi (Sunarjono, 2007). Pada stadium awal tumbuhnya, stolon sepintas seperti akar biasa. Warnanya lebih putih dan biasanya lebih panjang daripada akar cabang. Ukurannya juga lebih besar. Stolon amat lunak dan berisi lebih banyak cairan dibanding akar. Stolon

inilah yang bakal menghasilkan umbi kentang. Setelah mencapai ujung maksimal, stolon akan menggembung pada ujungnya (Hartus, 2001).

Kentang merupakan salah satu komoditas yang memegang peranan penting dan mendapat prioritas untuk dikembangkan dan mempunyai potensi dalam diversifikasi pangan. Menurut Samadi (2007) umbi kentang memiliki manfaat yang sama dengan jenis-jenis sayuran lainnya. Melihat kandungan gizinya, kentang merupakan salah satu jenis tanaman umbi yang memiliki kandungan gizi tinggi antara lain karbohidrat, mineral (besi, fosfor, magnesium, natrium, kalsium, dan kalium), protein, serta vitamin terutama vitamin C dan B1. Selain itu, kentang juga mengandung lemak dalam jumlah yang relatif kecil, yaitu 1,0-1,5%. Selain untuk konsumsi, kentang dapat dijadikan bahan baku untuk industri olahan makanan.

## 2.2 Penyakit Busuk Lunak disebabkan oleh *Erwinia* sp.

*Erwinia* sp. yang menyebabkan busuk lunak pada umbi kentang memiliki karakteristik yaitu termasuk kelompok bakteri Gram negatif, berbentuk batang, berukuran 0,98-1,67 x 1,12-1,19  $\mu\text{m}$ , berwarna putih pada media NA, saat koloni diangkat menggunakan jarum Ose terasa agak lengket, bersifat anaerob, mampu tumbuh pada pH 4-10,5 dan tidak mampu tumbuh pada suhu 10°C, 52°C, pH 3,5 serta kadar NaCl 9% (Azizah, 2015). Klasifikasi bakteri penyebab penyakit busuk lunak pada umbi kentang adalah Kingdom Procaryotae, Divisi Gracilicutes, Kelas Proteobacteria, Famili Enterobacteriaceae, Genus *Erwinia* (Brenner *et al.*, 2005).

Kisaran inang patogen *Erwinia* sp. tergolong sangat luas. Selain menyerang tanaman kentang, bakteri tersebut juga memiliki inang lainnya yaitu kubis-kubisan, tanaman cabai, tomat, wortel, tanaman umbi lainnya seperti bawang dan juga menyerang tanaman hias (Jackson, 2010). *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora* (Ecc) menyebar luas dalam suhu sedang dan zona tropis di seluruh dunia (Hélias *et al.*, 2000).

*Erwinia carotovora* menyerang pangkal batang menyebabkan batang membusuk, berwarna hitam, dan berlendir. Lendir ini merupakan campuran bakteri dan jaringan tanaman yang rusak. Tanaman yang terserang akan tumbang dan mati (Pitojo, 2008). Ketika busuk lunak berkembang, daging umbi membusuk dan menjadi bertekstur seperti krim dan warna menjadi kecoklat-coklatan.



Seringkali ada gejala batas hitam di antara lentisel yang dapat diamati saat umbi masih dalam masa tanam, tetapi biasanya muncul paling terlihat 4 hingga 10 hari setelah panen dan masa pengemasan. Gejala dicirikan oleh munculnya bintik-bintik gelap coklat, melingkar, berair atau lesi kecil mengelilingi lentisel di permukaan umbi. Jaringan yang terinfeksi biasanya tidak memanjang lebih dalam dari sekitar 4 mm ke umbi (Inglis *et al.*, 2011). Gejala kerusakan tanaman akibat serangan bakteri pada umbi adalah umbi menjadi busuk lunak, berlendir dan berbau khas (Gambar 1).



Gambar 1. Gejala *Erwinia* sp. pada umbi kentang (Seebold, 2014)

*Erwinia* penyebab busuk lunak menghasilkan lebih banyak enzim yang mampu mendegradasi komponen dinding sel tanaman yang dapat merusak jaringan. Enzim-enzim ini termasuk pektinase, selulase, protease dan xilanase, yang memiliki sifat berbeda. Kemampuan untuk memproduksi lebih banyak enzim / isoenzim dengan jumlah lebih besar daripada mikroorganisme saprofit pektolitik memungkinkan *Erwinia* untuk menyerang tanaman hidup lebih mudah dan menyebabkan penyakit (Collmer & Keen, 1986).

Penularan dan penyebaran dapat terjadi melalui berbagai cara, diantaranya melalui infeksi antar tanaman. Bakteri menginfeksi tanaman melalui lubang alami seperti hidatoda dan lentisel. Selain itu, bakteri juga dapat masuk pada jaringan tanaman melalui luka pada bagian tanaman yang diakibatkan oleh serangga atau penanganan pasca panen yang kurang tepat (Kucharek dan Bartz, 2000). Selain itu bakteri *E. carotovora* juga termasuk bakteri yang mampu bertahan hidup di dalam air. Bakteri ini dapat ditemukan pada permukaan air, aliran sungai, waduk, selokan dan laut. Sehingga penularannya bakteri penyebab busuk lunak pada kentang juga dapat melalui air. Bakteri ini juga dapat hidup di tanah, di sisa-sisa tanaman dan di umbi benih. Kelembaban yang tinggi juga semakin meningkatkan persebaran penyakit busuk lunak. Beberapa macam

serangga dapat terlibat dalam membawa bakteri dari umbi yang membusuk ke tanaman pada masa tanam berikutnya (Seebold, 2014).

### 2.3 Keanekaragaman Hayati pada Hutan

Keanekaragaman hayati atau biodiversitas adalah semua kehidupan di atas bumi ini baik tumbuhan, hewan, jamur dan mikroorganisme serta berbagai materi genetik yang dikandungnya dan keanekaragaman sistem ekologi di mana mereka hidup. Termasuk didalamnya kelimpahan dan keanekaragaman genetik relatif dari organisme-organisme yang berasal dari semua habitat baik yang ada di darat, laut maupun sistem-sistem perairan lainnya (Global Village Translations, 2007).

Indonesia memiliki keanekaragaman flora dan fauna yang cukup tinggi bila dibandingkan dengan keanekaragaman flora dan fauna negara lain di dunia. Meskipun daratan Indonesia hanya 1,3% dari seluruh daratan di bumi namun Indonesia memiliki keanekaragaman hayati berupa 10% spesies tanaman berbunga yang ada di dunia. Selain itu, flora dan fauna di Indonesia memiliki tingkat endemis yang tinggi. Hutan Indonesia juga memiliki kekayaan hayati flora yang beranekaragam (Soedradjad, 1999). Hutan di Indonesia mempunyai tegakan dan struktur pohon yang rapat sehingga tingkat keanekaragaman hayati juga tinggi (Ardi, 2009). Salah satu keanekaragaman hayati hutan yaitu mikroorganisme yang berperan dalam dekomposisi serasah daun pada tanaman di hutan.

Beberapa genus bakteri yaitu. *Acidobacterium*, *Mucilaginibacter*, *Rhodanobacter*, *Herminiimonas*, *Bradyrhizobium* dan *Actinoallomurus*. Genus *Herminiimonas* dan *Mucilaginibacter* merupakan bakteri yang paling banyak ditemukan di serasah dan tanah. Kelimpahan yang tinggi pada C-DNA juga ditunjukkan *Streptacidiphilus*, *Cytophaga*, *Asticcacaulis*, *Alkanindiges*, *Pedobacter* dan *Collimonas* (Štursová *et al.*, 2012). *Streptacidiphili* biasanya ditemukan pada tanah berkadar pH serasah pohon berdaun jarum. Jenis bakteri *acidophilic sporoactinobacteria* juga merupakan salah satu bakteri yang memiliki kemampuan mengendalikan pertumbuhan jamur dan juga berperan mendekomposisi bahan organik pada kondisi pH rendah (Golinska *et al.*, 2013).



## 2.4 Kawasan UB Forest

Kawasan Hutan Pendidikan Universitas Brawijaya atau *UB Forest* Malang ditetapkan oleh Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan pada tanggal 19 September 2016, dengan luas 544,74 ha (Sumarlan, 2017). Dalam hal ini Universitas Brawijaya diberikan hak pengelolaan Kawasan Hutan Dengan Tujuan Khusus (KHDTK). Lahan KHDTK UB akan dikembangkan menjadi hutan multifungsi yaitu sebagai area konservasi, daerah wisata biologi, area penelitian dan pengembangan, area pendidikan dan latihan, area sosiologi masyarakat sekitar hutan dan budaya, area hutan produksi, dan hutan ekonomi. Sasaran capaian KHDTK UB yaitu sebagai sarana penunjang kegiatan akademik mahasiswa yang berbasis lingkungan hidup dan sebagai sarana rekreasi edukasi bagi masyarakat dan mahasiswa (Dian, 2016).

*UB Forest* terdiri atas hutan konservasi dan hutan produksi. Jenis tanaman pada hutan produksi didominasi oleh pinus. Tanaman bawah tegakan yang diusahakan oleh masyarakat setempat antara lain: kopi, jahe, wortel, sawi dan jenis sayuran lainnya. *UB Forest* terletak di lereng Gunung Arjuno tepatnya di Dusun Sumbersari, Desa Tawang Argo, Kecamatan Karangploso, Kabupaten Malang, dengan ketinggian 1200 mdpl dan berada di lereng Gunung Arjuno yang memiliki ketinggian 3339 mdpl. Tingkat aksesibilitas ke kawasan *UB Forest* cukup mudah karena fasilitas jalannya telah diaspal, dengan jarak tempuh kurang lebih 5,3 km dari jalan raya Karangploso-Kota Batu (Sumarlan, 2017).

Lokasi pengambilan sampel penelitian dilakukan di Desa Tawangargo yang terletak pada posisi 7° 49' 29.2" Lintang Selatan dan 112° 34' 37.4" Bujur Timur. Topografi ketinggian desa Tawangargo berupa daratan tinggi yaitu sekitar 700 m – 1000 m di atas permukaan air laut. Secara administratif, Desa .Tawangargo terletak di wilayah Kecamatan Karangploso, Kabupaten Malang dengan posisi dibatasi oleh wilayah desa dan Hutan. Di sebelah utara berbatasan dengan Perhutani, sebelah barat berbatasan dengan Desa Giripurno, Kecamatan Bumiaji, Kota Batu, sedangkan sisi selatan berbatasan dengan Desa Pendem, Kecamatan Junrejo, Kota Batu dan sisi timur berbatasan dengan Desa Donowarih, Kecamatan Karangploso, Kabupaten Malang. Kawasan *UB Forest* di Desa

Tawangargo di dominasi oleh pohon pinus dan tanaman kopi (Diskominfo Malang, 2016).

## 2.5 Bakteri pada Serasah

Dekomposisi bahan organik adalah sebuah proses ekologi yang penting dalam sebuah ekosistem hutan. Melalui proses dekomposisi ini, serasah yang jatuh ke tanah bersama dengan kandungan nutrisi yang ada di dalamnya dilepaskan ke dalam tanah dan tersedia bagi tanaman (Prescott et. al., 2004). Serasah adalah bahan-bahan yang telah mati, terletak diatas permukaan tanah dan mengalami dekomposisi dan mineralisasi. Komponen-komponen yang termasuk serasah adalah daun, ranting, cabang kecil, kulit batang, bunga dan buah (Mindawati dan Pratiwi, 2008).

Menurut Mason (1977) terdapat 3 tahap proses dekomposisi serasah, yaitu: (1) Proses pelindihan (*leaching*), yaitu mekanisme hilangnya bahan-bahan yang terdapat pada serasah atau detritus akibat curah hujan atau aliran air. (2) Penghawaan (*wathering*), merupakan mekanisme pelapukan oleh faktor-faktor fisik seperti pengikisan oleh angin atau pergerakan molekul air. (3) Aktivitas biologi yang menghasilkan pecahan-pecahan organik oleh makhluk hidup yang melakukan dekomposisi. Aktivitas biologi dalam proses dekomposisi serasah salah satunya mikroba yang mampu menguraikan bahan organik termasuk serasah. Mikroba pengurai bahan organik dapat berupa jamur atau bakteri pengurai.

Jenis bakteri pengurai sangat beragam, berdasarkan hasil penelitian Akpor *et al.* (2006) memperoleh 19 bakteri berbeda yang ditemukan dalam dekomposisi serasah daun kakao yaitu *Bacillus* spp., *Flavobacterium* spp., *Cyrinebacterium* spp., *Actinomycetes* spp., *Lactobacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Pasteurella* spp., *Aeromonas* spp., *Chromobacterium* spp., *Shigella* spp., *Enterobacter* spp., *Staphylococcus* spp., *Klebseilla* spp., *Micrococcus* spp., *Nocardia* spp., *Acinetobacter* spp., *Proteus* spp., *Alcaligenes* spp., dan *Streptococcus* spp.

Terdapat juga beberapa bakteri memiliki kemampuan antagonis terhadap patogen tanaman. Berdasarkan hasil penelitian El-Hamshary dan Khattab (2008) beberapa bakteri dari genus *Bacillus*, seperti *B. subtilis*, *B. cereus*, *B.*

*licheniformis*, *B. megaterium* dan *B. pumilus* dapat berperan sebagai agen biokontrol untuk mengendalikan pertumbuhan jamur *Fusarium* sp. Javandira (2013) menyatakan terdapat pula beberapa bakteri dari genus *Bacillus* telah diketahui mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen tanaman, di antaranya *Erwinia carotovora* penyebab penyakit busuk lunak pada umbi kentang. Bakteri lain yang mampu berperan sebagai pengendali bakteri patogen tanaman diantaranya *Bacillus* sp., *Pseudomonas fluorescens*, dan *Streptomyces* sp. Selain sebagai agens pengendali hayati, bakteri ini juga dapat berperan sebagai pemacu pertumbuhan tanaman (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) (Desmawati, 2006).

Beberapa agensia pengendali hayati yang mempunyai kemampuan baik dalam pengendalian patogen lewat tanah yaitu *Pseudomonas* kelompok fluorezen (Kloepper, 1993), *Bacillus* spp., dan *Streptomyces* spp. (Cook and Baker, 1983). Bakteri-bakteri ini banyak ditemukan di rizosfer tanaman. *Pseudomonas fluorescens* yang diperoleh dari *Mimosa invisa* mampu menghambat pertumbuhan *Ralstonia solanacearum* in vitro dengan zona penghambatan bervariasi dari 2-15 mm. Mekanisme penghambatan sebagian besar adalah bakterisidal dan hanya beberapa yang bersifat bakteriostatik (Arwiyanto, 1997). Isolat *Bacillus* spp. B46 cenderung mempunyai kemampuan yang sama sebagai pengendali *Ralstonia solanacearum* dan penyakit layu bakteri (Prihatiningsih et al., 2006).

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya mulai bulan Januari sampai dengan Juni 2018.

#### 3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam pelaksanaan penelitian ini adalah timbangan analitik, kompor listrik, autoklaf type HL – 36Ae Hirayama, pisau, cawan Petri, jarum ose, mikroskop kamera OLYMPUS SZX7 series, Bunsen, beker glass, tabung reaksi, pinset, pipet, botol media, jarum suntik, gelas ukur, jangka sorong, kamera, *micropipete*, *eppendorf*, *cover glass*, *sprayer*, *cutter*, *object glass*, *stick glass* L mikropipet Vitlab dig 100-1000  $\mu$ l, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), gunting dan *spektrofotometer*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serasah daun kopi dari kawasan UB *Forest*, umbi kentang varietas Granola, isolat bakteri *Erwinia* sp., kertas saring, plastik *wrapping*, aluminium foil, kapas, tanaman tembakau, aquades steril, media *nutrient agar* (NA), media *nutrient broth* (NB) spiritus, tissue steril, KOH 3%, alkohol 70%, alkohol 96%, kristal violet, iodine, safranin, malachite green, pepton, NaCl,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , agar, bromothymolblue, larutan glukosa, parafin cair,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  dan gliserol.

#### 3.3 Metode Penelitian

Penelitian terdiri dari beberapa tahapan: (1) eksplorasi bakteri serasah daun kopi di kawasan UB *Forest* (2) uji patogenesitas bakteri *Erwinia* sp. (3) seleksi bakteri antagonis serasah daun kopi dari kawasan UB *Forest* terhadap patogen *Erwinia* sp. (4) uji hipersensitif (5) pengujian antagonis bakteri serasah daun kopi dari kawasan UB *Forest* terhadap patogen *Erwinia* sp. (6) uji penghambatan perkembangan penyakit busuk lunak oleh bakteri antagonis serasah daun kopi dari kawasan UB *Forest* (7) karakterisasi dan identifikasi bakteri serasah daun kopi dari kawasan UB *Forest* yang bersifat antagonis terhadap patogen *Erwinia* sp.

### 3.4 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.4.1 Eksplorasi bakteri serasah daun kopi

Pengambilan sampel serasah daun kopi menggunakan metode yang telah dilakukan Akpor (2006) dengan mengambil serasah daun dan tanah dibawah serasah daun pada plot pengamatan dengan ukuran 50m x 50m, pengambilan sampel dilakukan secara acak pada plot tersebut kemudian dihomogenkan. Sampel yang telah dihomogenkan, diambil dan ditimbang sebanyak 1 gram dan diberi aquades steril sebanyak 10 ml. Kemudian suspensi diambil sebanyak 1 ml untuk dilakukan pengenceran dari  $10^{-1}$  hingga  $10^{-9}$ . Selanjutnya suspensi yang telah diencerkan diambil dengan *micropipette* masing-masing 100  $\mu$ l pada pengenceran  $10^{-8}$  dan  $10^{-9}$ . Suspensi yang telah diambil telah diambil ditetaskan pada media NA padat.

Metode yang digunakan yakni metode *spread plate*. Pelaksanaan metode *spread plate* yakni mengambil 100  $\mu$ l suspensi sampel dan diratakan ke sebuah plate agar (Akpor, 2006). Sampel cair atau suspensi bakteri disebarkan ke permukaan media agar perbanyak dengan stik L yang telah dipanaskan pada bunsen untuk mensterilisasi dari kontaminan (Herigstad *et al.*, 2001). Setelah itu diinkubasi pada suhu ruang selama 2 x 24 jam. Selanjutnya bakteri yang tumbuh dipurifikasi hingga diperoleh kultur tunggal.

#### 3.4.2 Penumbuhan dan uji patogenesis bakteri *Erwinia* sp.

Bakteri patogen *Erwinia* sp. diperoleh dari koleksi Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Isolat bakteri *Erwinia* sp. ditumbuhkan pada media NA dan diinkubasi suhu ruang selama 24 jam. Proses peremajaan dan perbanyak juga dilakukan dengan menggunakan media NA dan diinkubasi dengan suhu ruang selama 24 jam. Selanjutnya isolat bakteri dibuat stok kultur menggunakan media NB dan disimpan pada suhu 6 - 8°C dalam lemari pendingin.

Isolat bakteri *Erwinia* sp. diujikan patogenesisnya untuk mengetahui kemampuannya dalam menyebabkan penyakit busuk lunak pada umbi kentang. Pengujian patogenesis bakteri *Erwinia* sp. dilakukan berdasarkan metode yang telah dilakukan Haque *et al.* (2009). Permukaan umbi kentang disterilisasi dengan



melakukan perendaman dalam sodium hipoklorit 1% selama 10 menit, lalu alkohol 70%, kemudian cuci dengan aquades steril sebanyak tiga kali dan dikering anginkan. Kentang dilubangi menggunakan ujung tip mikropipet, lalu diinokulasikan suspensi bakteri patogen *Erwinia* sp. pada konsentrasi  $10^9$  cfu/ml sebanyak 1 ml. Sementara itu, sebagai perlakuan umbi kontrol kentang diinokulasikan aquades steril. Selanjutnya umbi kentang diinkubasi dalam wadah lembab pada suhu kamar selama 7 hari.

### **3.4.3 Seleksi Bakteri Antagonis Serasah Daun Kopi dari Kawasan UB Forest terhadap Patogen *Erwinia* sp.**

Seleksi bakteri antagonis hasil eksplorasi dari Kawasan UB Forest dilakukan dengan menggunakan metode *Spray* (pengkabutan) menurut Kawaguchi *et al.* (2008). Bakteri serasah daun kopi hasil eksplorasi diinkubasi selama 24 jam selanjutnya diambil dengan jarum ose lalu dibuat suspensi dalam aquades steril. Kemudian disiapkan kertas saring steril dengan diameter 5 mm dimasukkan ke dalam suspensi selama  $\pm 1$  menit dan tiriskan selama 5 jam. Selanjutnya kertas saring ditanam di media NA dan diinkubasi selama 24 jam lalu bakteri antagonis dimatikan dengan pemberian uap kloroform dengan menambahkan kloroform ditutup cawan Petri dalam keadaan terbalik selama 1 jam. Setelah menguap, biakan disemprot dengan suspensi bakteri patogen *Erwinia* sp. pada kerapatan  $10^9$  cfu/ml. Hasil perlakuan diamati selama 24 - 48 jam dan daerah hambatan (zona hambat) yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong dan didokumentasikan.

### **3.4.4 Uji Hipersensitif**

Respon hipersensitif adalah kompleks pertahanan tanaman yang merupakan tanggapan awal dalam bentuk nekrosis dan terjadinya kematian sel untuk membatasi pergerakan patogen. Uji hipersensitif dapat dilakukan tidak pada tanaman inang. Gejala *Hypersensitive Response* yang didapatkan dari bakteri patogen tanaman yang disuntikan pada daun tembakau atau jaringan lain (Leiwakabessy, 2011).

Uji hipersensitif menggunakan tanaman tembakau dengan cara tulang daun utama pada permukaan daun sebelah bawah dilukai menggunakan jarum

suntik aseptik dengan cara menyayat selanjutnya suspensi bakteri disuntikkan menggunakan spuit tanpa jarum infiltrasi. Suspensi biakan murni bakteri serasah daun kopi yang telah berumur 48 jam disuspensikan dalam 10 ml aquades steril dengan kerapatan  $10^9$  cfu/ml, sebagai kontrol positif inokulasi dilakukan dengan suspensi bakteri patogen *Erwinia* sp. dengan kerapatan  $10^9$  cfu/ml. Pengamatan terjadinya nekrotik dilakukan pada 24 - 72 jam setelah inokulasi (Fahy *et al.*, 1983).

### **3.4.5 Uji Antagonisme Bakteri Serasah Daun Kopi terhadap Bakteri Patogen *Erwinia* sp.**

Bakteri hasil seleksi diambil lima isolat bakteri dengan kemampuan antagonisme terbaik terhadap bakteri patogen *Erwinia* sp., selanjutnya dilakukan uji antagonisme menggunakan metode *Spray* (pengkabutan) menurut Kawaguchi *et al.* (2008). Bakteri serasah daun kopi hasil eksplorasi diinkubasi selama 24 jam selanjutnya diambil dengan jarum ose lalu dibuat suspensi dalam aquades steril. Kemudian disiapkan kertas saring steril dengan diameter 5 mm dimasukkan ke dalam suspensi selama  $\pm 1$  menit dan tiriskan selama 5 jam. Selanjutnya kertas saring ditanam di media NA dan diinkubasi selama 24 jam lalu bakteri antagonis dimatikan dengan pemberian uap kloroform dengan menambahkan kloroform ditutup cawan Petri dalam keadaan terbalik selama 1 jam. Setelah menguap, biakan disemprot dengan suspensi bakteri patogen *Erwinia* sp. pada kerapatan  $10^9$  cfu/ml. Hasil perlakuan diamati selama 24 - 48 jam dan daerah hambatan (zona hambat) yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong dan didokumentasikan.

Pengujian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 5 ulangan. Kerapatan suspensi isolat bakteri yang digunakan pada uji antagonis bakteri serasah daun kopi terhadap bakteri patogen *Erwinia* sp. yaitu kerapatan  $10^9$  cfu/ml. Masing-masing perlakuan diinkubasi selama 24 jam dan diukur zona hambat yang terbentuk dan didokumentasikan.



Perlakuan yang diberikan yaitu:

1. Isolat bakteri serasah daun kopi terpilih kode 13 dan *Erwinia* sp.
2. Isolat bakteri serasah daun kopi terpilih kode 24 dan *Erwinia* sp.
3. Isolat bakteri serasah daun kopi terpilih kode 31 dan *Erwinia* sp.
4. Isolat bakteri serasah daun kopi terpilih kode 32 dan *Erwinia* sp.
5. Kontrol (bakterisida dan *Erwinia* sp.)

#### **3.4.6 Uji Penghambatan Perkembangan Penyakit Busuk Lunak *Erwinia* sp. oleh Bakteri Antagonis Serasah Daun Kopi dari Kawasan UB Forest pada Umbi Kentang**

Uji penghambatan penyakit busuk lunak pada umbi kentang dilaksanakan berdasarkan metode menurut Haque *et al.* (2009). Umbi kentang varietas Granola dilakukan sterilisasi permukaan dengan direndam sodium hipoklorit 1% selama 10 menit, kemudian cuci dengan aquades steril tiga kali dan dikeringanginkan. Kemudian umbi kentang dilukai menggunakan ujung mikrotip, lalu diinokulasikan dengan suspensi bakteri serasah daun kopi hasil eksplorasi sebanyak 50 µl kemudian dibiarkan selama 1-2 jam hingga kering. Selanjutnya pada luka yang sama diinokulasikan suspensi bakteri patogen *Erwinia* sp. pada kerapatan  $10^9$  cfu/ml sebanyak 50 µl. Umbi kentang yang sudah diinokulasi lalu diinkubasi dalam wadah lembab pada suhu kamar selama 7 hari. Massa busuk lunak yang dihasilkan setiap perlakuan dikorek dan ditimbang menggunakan timbangan analitik. Uji penghambatan perkembangan penyakit busuk lunak *Erwinia* sp. oleh bakteri antagonis serasah daun kopi dari kawasan UB Forest pada umbi kentang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan yang diberikan yaitu :

1. Isolat bakteri serasah daun kopi terpilih kode 13 dan *Erwinia* sp.
2. Isolat bakteri serasah daun kopi terpilih kode 24 dan *Erwinia* sp.
3. Isolat bakteri serasah daun kopi terpilih kode 31 dan *Erwinia* sp.
4. Isolat bakteri serasah daun kopi terpilih kode 32 dan *Erwinia* sp.
5. Kontrol positif (bakterisida dan *Erwinia* sp.)
6. Kontrol negatif (aquades steril dan *Erwinia* sp.)

### 3.4.7 Karakterisasi Morfologi dan Fisiologis Bakteri pada Serasah Daun Kopi Antagonis terhadap *Erwinia* sp.

Karakterisasi bakteri pada dekomposisi serasah daun kopi antagonis dilakukan berdasarkan *Bergey's Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.* (2001) meliputi uji Gram yang terdiri dari pewarnaan gram dan uji KOH, uji oksidatif fermentatif serta penumbuhan pada media YDC. Pengujian bakteri tingkat genus dilakukan berdasarkan Schaad *et al.* (2001) (Gambar 2). Adapun pengujian yang dilakukan untuk mengetahui karakterisasi morfologi dan fisiologis bakteri, meliputi:

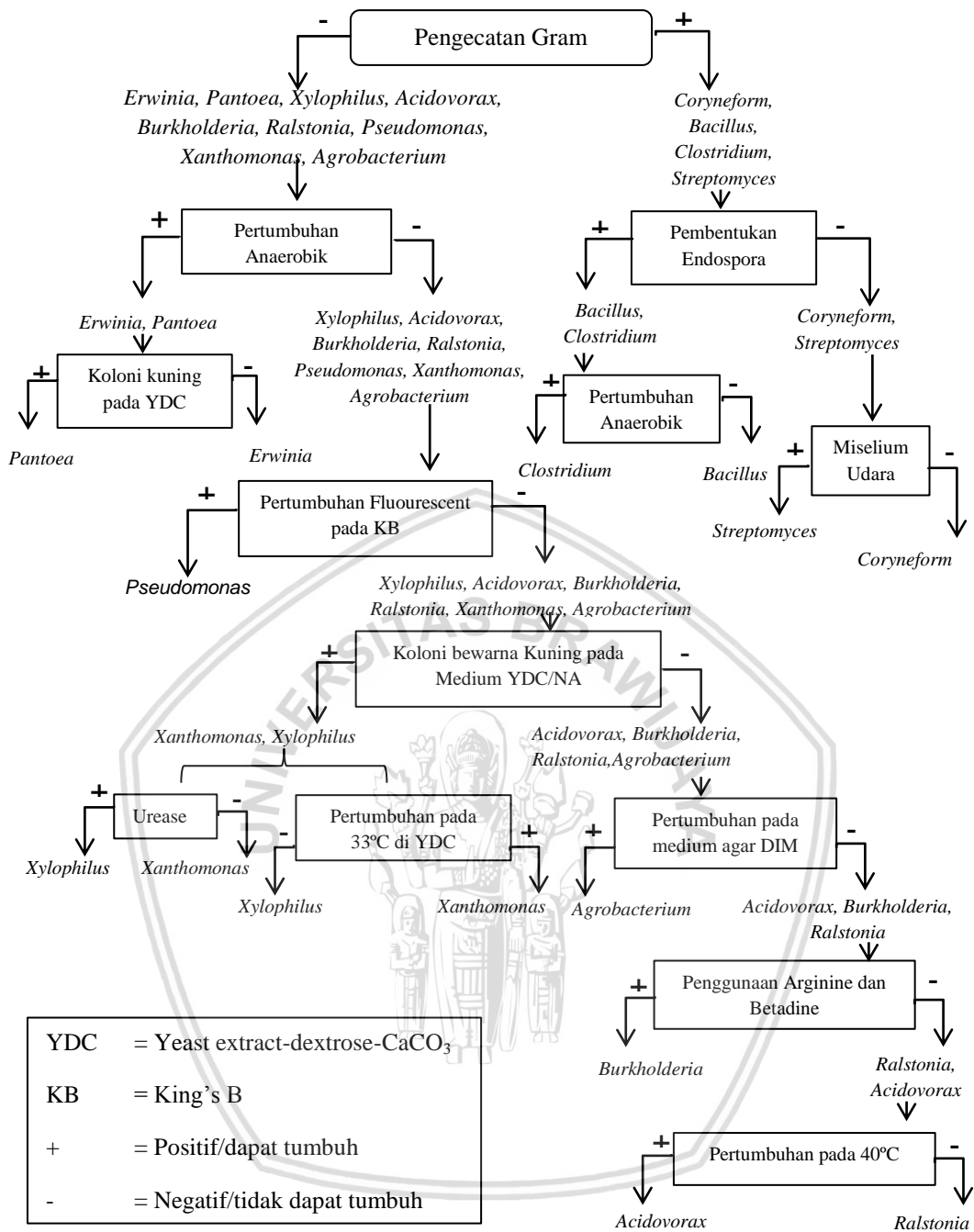
#### a. Uji Gram

##### 1) Uji KOH

Uji KOH dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri bersifat Gram negatif atau Gram positif. Uji KOH dilakukan dengan mencampurkan satu lup bakteri uji pada preparat steril yang telah ditetesi KOH 3% menggunakan jarum Ose. Bakteri Gram negatif ditandai dengan adanya lendir seperti benang yang tertarik ketika jarum Ose diangkat. Bakteri Gram positif ditandai dengan tidak adanya lendir seperti benang yang tertarik ketika jarum Ose diangkat.

##### 2) Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram dilakukan dengan menggoskan satu lup bakteri diatas preparat steril lalu ditambah aquades steril dan diratakan. Fiksasi bakteri dilakukan dengan melewati bagian bawah preparat diatas bunsen hingga semua permukaan preparat kering. Preparat ditetesi larutan kristal violet dan diratakan diatas permukaan preparat selama 1 menit. Preparat dicuci dengan air mengalir selama beberapa detik, lalu dikering anginkan. Kemudian,preparat ditetesi dengan larutan iodine dan diratakan diatas preparat selama 1 menit. Preparat kemudian dicuci dengan air mengalir air mengalir selama beberapa detik, lalu dikering anginkan. Pewarnaan kembali dengan etil alkohol kurang lebih selama 30 detik. Preparat lalu dicuci dengan air mengalir kurang lebih 2 detik kemudian dikering anginkan. Lalu preparat ditetesi larutan safranin dan diratakan diatas preparat selama 10 detik. Preparat dicuci dengan cepat menggunakan air mengalir kemudian dikering anginkan. Bakteri Gram negatif mempunyai sel warna merah, sedangkan bakteri Gram positif mempunyai sel warna ungu.



Gambar 1. Identifikasi bakteri hingga tingkat genus (Schaad *et al.*, 2001)

#### b. Uji Oksidatif Fermentatif

Uji oksidatif fermentatif bakteri Gram negatif dilakukan dengan menginokulasikan bakteri dalam media basal sebanyak 5 ml. Media basal dalam 1 liter aquades terdiri dari pepton 2 gram, NaCl 5 gram,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,3 gram, agar 3 gram, dan bromothymolblue (larutan 1 %) 3 ml. Bahan-bahan dihomogenkan dalam aquades dan diatur pada pH 7,1 kemudian disterilkan pada suhu  $121^\circ\text{C}$  selama 20 menit. Kemudian tambahkan 0,5 ml larutan glukosa steril secara aseptis. Lalu bakteri diinokulasikan ke dalam dua tabung reaksi yang berisi media basal kemudian satu tabung ditutup parafin cair dan satu tabung lain tidak ditambahkan parafin cair. Perubahan warna dari biru menjadi kuning di media yang ditutup parafin menunjukkan hasil yang positif, artinya dia mampu tumbuh secara anaerob (fermentatif).

#### c. Pertumbuhan pada Media *Yeast Dextrose Carbonate* (YDC)

Pengujian pertumbuhan pada media selektif YDC dilakukan pada bakteri yang dapat tumbuh secara anaerob. Komposisi media YDC terdiri dari ekstrak 10 gram, glukosa 20 gram,  $\text{CaCO}_3$  20 gram, agar 15 gram dalam 1 liter aquades kemudian media YDC disterilisasi pada  $121^\circ\text{C}$  selama 15 menit. Bakteri digoreskan pada media YDC lalu diinkubasi selama 24 - 48 jam. Amati warna koloni yang tumbuh. Apabila berwarna putih maka bakteri tersebut termasuk genus *Erwinia* sp. namun jika koloni bakteri yang tumbuh berwarna kuning maka *Pantoea* sp.

### 3.5 Variabel Pengamatan

#### 3.5.1 Indeks Penghambatan Bakteri Antagonis terhadap Patogen *Erwinia* sp.

Pembentukan zona hambat atau zona penghambatan yang dihasilkan oleh isolat bakteri serasah daun kopi bersifat antagonis terhadap *Erwinia* sp., diameter zona hambat diukur dengan menggunakan jangka sorong. Zona hambat diukur secara vertikal dan horizontal kemudian dirata-rata. Data diameter digunakan untuk menunjukkan kemampuan atau daya hambat bakteri serasah daun kopi bersifat antagonis terhadap *Erwinia* sp.

Indeks penghambatan dihitung menggunakan rumus menurut Dias *et al.* (2014), yaitu:

$$I = \frac{B - A}{B}$$

Keterangan:

I = Indeks zona hambat

A = Diameter koloni agens hayati (cm)

B = Diameter zona hambat (cm)

### 3.5.2 Massa Busuk Lunak pada Jaringan Umbi Kentang

Pengamatan penghambatan secara *in vivo* pada umbi kentang oleh bakteri serasah daun kopi bersifat antagonis terhadap bakteri patogen *Erwinia* sp. penyebab penyakit busuk lunak dilakukan dengan menghitung massa busuk lunak pada jaringan umbi kentang. Umbi kentang diiris menjadi dua bagian kemudian jaringan busuk yang dihasilkan oleh masing masing isolat setiap perlakuan dikorek keluar dan ditimbang dengan timbangan analitik (Haque *et al.*, 2009).

## 3.6 Analisis Data

Data kuantitatif dianalisis dengan menggunakan analisis ragam ANOVA pada taraf 5% dengan software Minitab 17. Apabila hasil pengujian menunjukkan hasil yang berbeda nyata maka selanjutnya dilakukan uji Duncan pada taraf 5% untuk mengetahui pengaruh antar perlakuan.

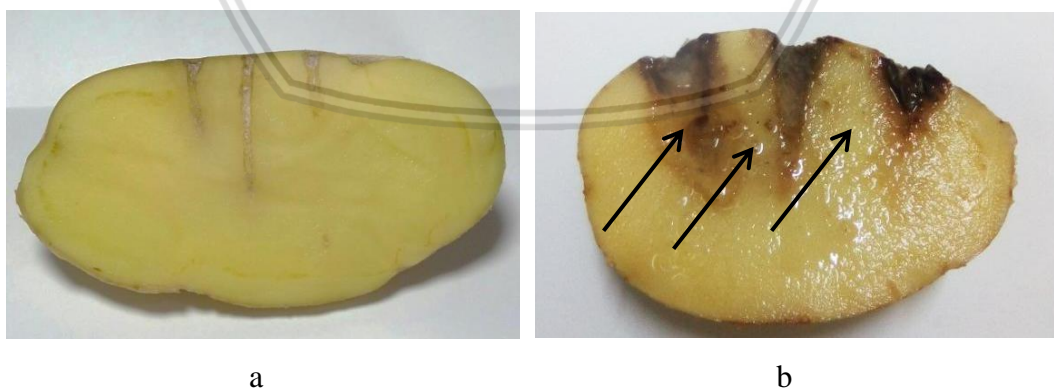


#### IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

##### 4.1 Uji Patogenesitas *Erwinia* sp. pada Umbi Kentang

Tujuan dilakukan uji patogenesitas bakteri *Erwinia* sp. terhadap umbi kentang untuk mengetahui gejala penyakit busuk lunak pada umbi kentang yang disebabkan oleh patogen *Erwinia* sp. Fanani *et al.* (2015) menyebutkan tujuan uji patogenesitas adalah untuk membuktikan bahwa isolat yang didapatkan bisa menimbulkan gejala yang sama dengan gejala penyakit yang ditemukan sebelumnya. Uji patogenesitas dapat dilakukan pada tanaman inangnya.

Hasil pengujian bakteri *Erwinia* sp. terhadap umbi kentang pada 7 HSI menunjukkan gejala busuk dengan jaringan lunak, muncul lendir pada bagian yang terserang, warna umbi menjadi kuning kecoklatan serta mengeluarkan bau tidak sedap saat gejala meluas. Gejala tersebut serupa dengan yang dikemukakan Istifadah *et al.* (2017) bagian yang dilukai dan diinokulasi patogen tampak busuk mengendap dan apabila ubi kentangnya dibelah, ubi kentang menjadi busuk berlendir yang semakin meluas. Hasil pengujian tersebut juga sesuai dengan Agrios (2004) umbi kentang yang terserang bakteri *E. carotovora* mulanya tidak berbau, kemudian mengeluarkan bau tidak sedap ketika umbi mulai terinfeksi hampir seluruh bagian, jaringan membusuk lunak dan kental. Ketika umbi dipotong melintang, bagian dalam terlihat basah seperti bubur serta berwarna kuning kecoklatan.



Gambar 1. Hasil uji busuk lunak patogen *Erwinia* sp. pada umbi kentang setelah 7 HSI. (a) perlakuan kontrol dengan inokulasi aquades steril; (b) perlakuan dengan inokulasi bakteri patogen *Erwinia* sp.

Keterangan : Tanda panah menunjukkan adanya perkembangan penyakit busuk lunak pada jaringan umbi kentang yang telah dilukai dan diinokulasi bakteri patogen *Erwinia* sp.

#### 4.2 Seleksi Bakteri Serasah Daun Kopi yang Bersifat Antagonis terhadap Patogen *Erwinia* sp.

Hasil eksplorasi bakteri serasah daun kopi diperoleh 32 isolat bakteri, isolat-isolat bakteri hasil eksplorasi serasah daun kopi tersebut diseleksi untuk mengetahui potensi penghambatan terhadap bakteri patogen *Erwinia* sp. Seleksi dilakukan dengan cara uji antagonis bakteri dalam cawan petri. Hasil seleksi 32 isolat bakteri serasah daun kopi diperoleh 11 isolat bakteri bersifat antagonis terhadap bakteri patogen *Erwinia* sp. (Tabel 1). Sifat antagonis ditandai dengan munculnya zona penghambatan yang terbentuk antara koloni bakteri serasah daun kopi dan bakteri patogen *Erwinia* sp. Tinggi rendahnya daya hambat bakteri antagonis serasah daun kopi diketahui dengan menghitung indeks penghambatan terhadap bakteri patogen *Erwinia* sp. Zona hambatan yang terbentuk menunjukkan bahwa terdapat sifat antagonisme antar isolat bakteri. Masing-masing isolat bakteri saling menghambat perkembangan bakteri yang satu dan lainnya (Handiyanti, 2010). Isolat bakteri antagonis serasah daun kopi yang

Tabel 1. Indeks penghambatan 32 isolat bakteri serasah daun kopi dengan *Erwinia* sp. secara *in vitro*.

Kode Isolat	IP	Zona Hambat	Kode Isolat	IP	Zona Hambat
Isolat 1	0,27	+	Isolat 21	0,64	+
Isolat 3	0,00	-	Isolat 22	0,00	-
Isolat 4	0,50	+	Isolat 23	0,00	-
Isolat 5	0,00	-	Isolat 24	0,83	+
Isolat 6	0,00	-	Isolat 25	0,00	-
Isolat 7	0,54	+	Isolat 26	0,00	-
Isolat 8	0,00	-	Isolat 27	0,00	-
Isolat 9	0,00	-	Isolat 28	0,00	-
Isolat 10	0,00	-	Isolat 29	0,00	-
Isolat 13	0,75	+	Isolat 30	0,58	+
Isolat 14	0,00	-	Isolat 31	0,83	+
Isolat 15	0,00	-	Isolat 32	0,84	+
Isolat 16	0,00	-	Isolat 33	0,00	-
Isolat 18	0,64	+	Isolat 34	0,50	+
Isolat 19	0,00	-	Isolat 35	0,00	-
Isolat 20	0,00	-	Isolat 36	0,00	-

Keterangan : Tanda positif (+) menunjukkan adanya zona hambat; tanda negatif (-) menunjukkan tidak ada zona hambat.

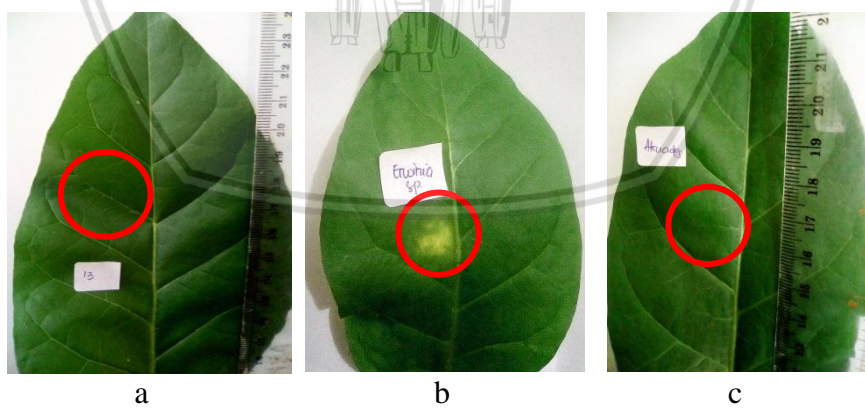
memiliki daya penghambatan empat tertinggi terhadap bakteri patogen *Erwinia* sp. kemudian dipilih dan digunakan untuk pengujian selanjutnya yaitu uji



hipersensitif untuk mengetahui sifat patogenik terhadap tanaman. Isolat bakteri empat tertinggi yaitu isolat 13, 24, 31 dan 32.

#### 4.3 Uji Hipersensitif

Uji hipersensitif dilakukan untuk mengetahui sifat patogenik bakteri terhadap tanaman. Isolat bakteri serasah daun kopi yang memiliki nilai indeks penghambatan empat tertinggi yaitu isolat 13, 24, 31 dan 32 dilakukan uji hipersensitif. Uji hipersensitif dengan menginokulasikan empat isolat bakteri yaitu 13, 24, 31 dan 32 pada daun tembakau tidak menghasilkan gejala nekrosis seperti yang dihasilkan oleh bakteri patogen *Erwinia* sp. (Gambar 4). Menurut Wahyudi *et al.* (2011) reaksi hipersensitif merupakan kematian sel yang cepat dan terlokalisasi. Reaksi ini muncul pada tanaman yang terinfeksi saat pengenalan patogen dan bersamaan dengan itu, merupakan usaha untuk menghambat pertumbuhan patogen. Berdasarkan Agrios (2005) reaksi positif ini ditunjukkan dengan munculnya gejala nekrotik setelah diinokulasi dengan suspensi bakteri. Reaksi hipersensitif menyebabkan hancurnya seluruh membrane seluler dari sel-sel yang berkontak dengan bakteri dan kemudian diikuti dengan pengeringan dan nekrosis jaringan daun yang terserang bakteri tersebut. Berdasarkan hasil uji hipersensitif dapat disimpulkan empat isolat bakteri antagonis tersebut tidak termasuk patogen terhadap tanaman.



Gambar 2. Hasil pengujian hipersensitif isolat bakteri antagonis serasah daun kopi di tanaman tembakau pada 72 jam setelah inokulasi (a) isolat 13; (b) kontrol *Erwinia* sp.; (c) kontrol aquades

#### 4.4 Uji Penghambatan Pertumbuhan *Erwinia* sp. oleh Bakteri serasah daun kopi dari kawasan UB Forest dalam Cawan Petri

Penghambatan pertumbuhan *Erwinia* sp. oleh bakteri serasah daun kopi dapat diketahui dari nilai indeks penghambatan yang dihasilkan oleh masing-masing bakteri antagonis. Empat isolat bakteri antagonis terpilih yaitu isolat bakteri 13, 24, 31 dan 32 mampu menghasilkan zona hambat pada media NA ketika diuji dengan bakteri patogen *Erwinia* sp. (Gambar 5). Berdasarkan hasil analisis ragam diketahui perlakuan isolat bakteri antagonis serasah daun kopi menunjukkan indeks penghambatan yang berpengaruh nyata pada uji penghambatan pertumbuhan *Erwinia* sp. (Tabel Lampiran 1). Perubahan indeks penghambatan pertumbuhan *Erwinia* sp. oleh bakteri antagonis serasah daun kopi pada hari ke-1, hari ke-2 dan hari ke-3 tidak menunjukkan perubahan yang signifikan, nilai indeks penghambatannya cenderung tetap (Tabel 2). Nilai indeks penghambatan terendah ditunjukkan oleh isolat bakteri 13 dan nilai indeks penghambatan tertinggi ditunjukkan oleh isolat bakteri 31 dan 32.

Tabel 2. Hasil uji penghambatan pertumbuhan *Erwinia* sp. oleh bakteri antagonis serasah daun kopi

Perlakuan	Indeks Penghambatan		
	Hari ke-1 $\pm$ SD	Hari ke-2 $\pm$ SD	Hari ke-3 $\pm$ SD
Isolat 13	0.71 $\pm$ 0.08a	0.69 $\pm$ 0.09a	0.54 $\pm$ 0.05a
Isolat 24	0.88 $\pm$ 0.04bc	0.88 $\pm$ 0.02bc	0.86 $\pm$ 0.05bc
Isolat 31	0.90 $\pm$ 0.01c	0.89 $\pm$ 0.01c	0.89 $\pm$ 0.01c
Isolat 32	0.90 $\pm$ 0.01c	0.89 $\pm$ 0.01c	0.89 $\pm$ 0.01c
Streptomycin sulfat 20%	0.83 $\pm$ 0.02b	0.83 $\pm$ 0.02b	0.83 $\pm$ 0.02b

Keterangan : Angka yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5%. SD : Standar Deviasi

Munculnya zona hambat dari hasil uji penghambatan menunjukkan empat isolat bakteri serasah daun kopi memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Erwinia* sp. dengan mekanisme antibiosis yaitu dengan cara memproduksi senyawa antibiotik. Hal tersebut sesuai dengan Sigee (1993) yang menyatakan senyawa antibiotik yang dihasilkan secara *in vitro* ditunjukkan dengan besar kecilnya zona hambatan yang terbentuk di sekitar koloni bakteri agens hayati yang diujikan. Penghambatan dengan adanya mekanisme antibiosis dengan menghasilkan metabolit sekunder berupa antibiotik





Hasil analisis ragam perlakuan isolat bakteri antagonis serasah daun kopi menunjukkan massa busuk lunak berpengaruh nyata pada uji penekanan perkembangan penyakit busuk lunak terhadap umbi kentang (Tabel Lampiran 4). Berdasarkan hasil uji lanjut DMRT diperoleh isolat bakteri 31 dan 32 menghasilkan massa busuk lunak yang berbeda nyata dengan massa busuk lunak yang dihasilkan oleh kontrol bakterisida streptomisin sulfat 20% (Tabel 3). Hal tersebut membuktikan penekanan perkembangan penyakit busuk lunak oleh bakteri antagonis dengan kode isolat 31 dan 32 dapat dikatakan lebih efektif. Sedangkan isolat 13 menghasilkan nilai massa busuk lunak terbesar bila dibandingkan dengan perlakuan isolat bakteri antagonis yang lain, sehingga isolat 13 tersebut memiliki intensitas penekanan terendah bila dibandingkan dengan perlakuan yang lain.

Tabel 3. Rerata massa busuk lunak umbi kentang pada uji penekanan penyakit busuk lunak pada 7 hari setelah inokulasi

Perlakuan	Massa Busuk Lunak (gram) $\pm$ SD
Isolat 13	$0.32 \pm 0.02c$
Isolat 24	$0.18 \pm 0.01ab$
Isolat 31	$0.17 \pm 0.03a$
Isolat 32	$0.17 \pm 0.02a$
Streptomycin sulfat 20%	$0.21 \pm 0.02b$
Aquades	$0.36 \pm 0.03d$

Keterangan : Angka yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5%. SD : Standar Deviasi

Menurut Suryanto (2014) pemanfaatan mikroba untuk mengendalikan penyakit tanaman merupakan bidang yang relatif belum lama berkembang. Pengendalian hayati penyakit tanaman seringkali dilakukan dengan menggunakan mikroba seperti bakteri dan jamur. Sumber biologi untuk pengendalian hama dan penyakit tanaman tetap merupakan alternatif potensial yang penting sebagai pengganti pestisida, dan sering dianjurkan untuk mengganti pengendalian berbasis kimia terhadap penyakit atau untuk mengendalikan penyakit yang jika dikendalikan dengan bahan kimia tidak ekonomis. Salah satu pertimbangan dalam memilih agen pengendali hayati berupa kemampuan biopestisida bertahan dalam waktu lama dan tidak memerlukan tempat penyimpanan khusus.

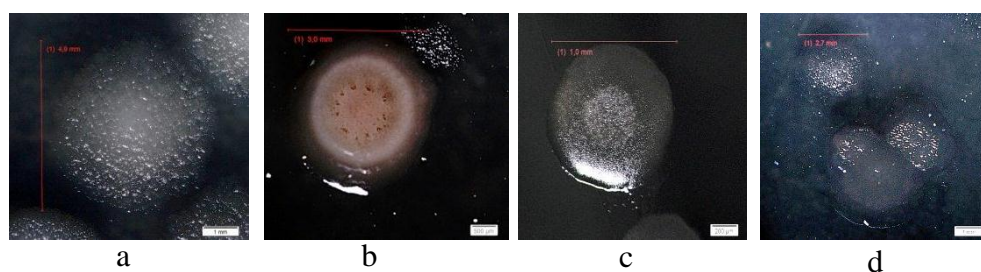
Potensi isolat bakteri 31 dan 32 yang menunjukkan kemampuan lebih baik dalam penekanan penyakit busuk lunak pada umbi kentang bila dibandingkan

dengan perlakuan kontrol bakterisida streptomisin sulfat 20% dapat dimanfaatkan juga sebagai agens pengendali hayati. Mekanisme pengendalian hayati oleh agens hayati dapat dilakukan dengan melemahkan atau membunuh patogen tanaman secara langsung, memproduksi antibiotik, melalui kompetisi ruang dan nutrisi, memproduksi enzim untuk melawan komponen sel patogen dan menginduksi respons ketahanan inang, serta menghasilkan stimulan. Organisme yang umum digunakan dalam pengendalian hayati adalah cendawan dan bakteri antagonis (Agrios, 2004). Namun perlu adanya pengkajian lebih lanjut mengingat tahap penelitian ini merupakan tahap awal, agar kemampuan penghambatan penyakit busuk lunak pada isolat bakteri tersebut dapat muncul secara optimal.

#### 4.6 Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Hasil Seleksi

##### 4.6.1 Karakterisasi Morfologi

Karakterisasi dilakukan terhadap 4 isolat bakteri yang telah lolos tahap seleksi antagonis dengan indeks penghambatan terbaik, uji hipersensitif dan uji penekanan penyakit busuk lunak pada umbi kentang. Pengamatan yang dilakukan meliputi morfologi koloni dan morfologi sel. Morfologi sel meliputi bentuk sel dan sifat gram dapat ditentukan dengan melihat sel bakteri pada preparat yang sudah diwarnai melalui mikroskop. Sedangkan untuk mengamati morfologi koloni dengan melihat bentuk koloni, warna, tepian dan elevasi (Sabdaningsih et al., 2013). Hasil pengamatan morfologi koloni dan morfologi sel terhadap 4 isolat bakteri di bawah mikroskop menunjukkan hasil yang berbeda-beda (Tabel 4). Berikut ini merupakan penampakan morfologi koloni tunggal 4 isolat bakteri terpilih.



Gambar 4. Karakteristik morfologi koloni tunggal bakteri hasil seleksi (a) isolat 13; (b) isolat 24; (c) isolat 31; (d) isolat 32.



Tabel 4. Karakteristik morfologi, fisiologi dan biokimia bakteri antagonis

Isolat	Bentuk	Karakterisasi morfologi			Karakterisasi fisiologi dan biokimia						Genus bakteri
		Elevasi	Warna	Tepi	Bentuk sel	Pewarnaan Gram	Uji KOH 3%	Uji Gram	Uji OF	Media YDC	
13	Bulat	Rata	Putih keruh	Tidak rata	Batang	Merah	Berlendir	Negatif	Fermentatif	Kuning	<i>Pantoea</i> sp.
24	Bulat	Rata	Putih keruh	Rata	Batang	Merah	Berlendir	Negatif	Fermentatif	Kuning	<i>Pantoea</i> sp.
31	Bulat	Cembung	Putih keruh	Rata	Batang	Merah	Berlendir	Negatif	Fermentatif	Putih	<i>Erwinia</i> sp.
32	Bulat	Rata	Putih bening	Tidak rata	Batang	Merah	Berlendir	Negatif	Fermentatif	Putih	<i>Erwinia</i> sp.

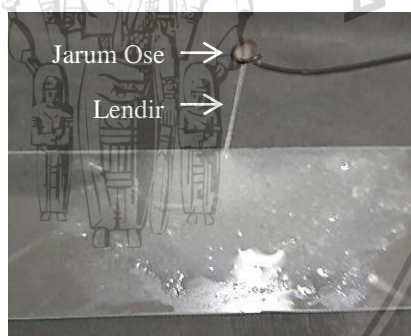
#### 4.6.2 Karakterisasi Fisiologi dan Biokimia

Karakterisasi fisiologi bertujuan untuk menentukan genus isolat bakteri. Metode yang digunakan berdasarkan Schaad *et al.* (2001) karakterisasi ini meliputi uji Gram dengan kelarutan KOH 3% dan pewarnaan Gram, uji Oksidatif Fermentatif dan terakhir uji pertumbuhan pada media Yeast Extract-Dextrose Carbonat (YDC).

##### 4.6.2.1 Uji Gram

###### 1. Uji KOH

Hasil uji KOH 3% terhadap empat isolat bakteri antagonis serasah daun kopi adalah Gram negatif. Empat isolat bakteri yang telah ditetesi dengan KOH 3% ketika ditarik menggunakan jarum Ose menunjukkan adanya lendir seperti benang. Hasil tersebut sesuai dengan Schaad *et al.* (2001) dalam uji bakteri terhadap KOH pada bakteri Gram negatif tampak berlendir, lengket dan terangkat seperti benang ketika ditarik menggunakan jarum Ose (Gambar 8), sedangkan bakteri Gram positif tidak tampak berlendir, encer, dan ketika ditarik dengan jarum Ose tidak terangkat.

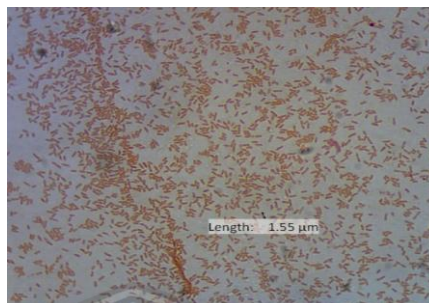


Gambar 5. Hasil uji KOH, isolat bakteri 13 berlendir saat diangkat jarum Ose

###### 2. Pewarnaan Gram

Empat Isolat bakteri serasah daun kopi yang bersifat antagonis dilakukan pewarnaan gram menunjukkan warna merah keunguan ketika diamati pada mikroskop (Gambar 9), dan empat bakteri tersebut termasuk gram negatif. Hal tersebut sesuai pernyataan Rahayu and Gumilar (2017) pada sel Gram negatif, alkohol meningkatkan porositas dinding sel dengan melarutkan lipid lapisan luar. Sehingga kristal violet dapat lebih mudah dihilangkan dari lapisan peptidoglikan yang tidak kuat bertaut. Oleh sebab itu, efek pencucian alkohol memfasilitasi pelepasan kompleks yang tidak terikat, yang membuat sel-sel menjadi kehilangan

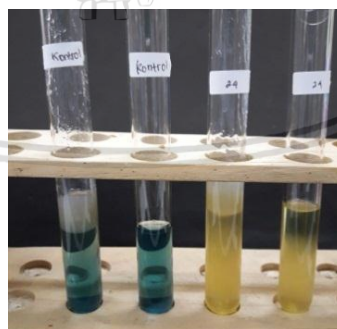
warna atau tidak berwarna. Karena hanya sel-sel Gram negatif yang mengalami kehilangan warna sehingga sel-selnya menyerap pewarna tandingan salah satunya safranin dan menghasilkan warna merah. Sedangkan Gram-positif mempertahankan warna ungu dari pewarna primer.



Gambar 6. Hasil pewarnaan gram isolat bakteri 31 memiliki bentuk batang

#### 4.6.2.2 Uji Oksidatif-Fermentatif

Pengujian Oksidatif Fermentatif (OF) dilakukan untuk mengetahui metabolisme bakteri, termasuk dalam kategori bakteri Oksidatif (aerob) atau Fermentatif (anaerob). Perubahan warna yang ditunjukkan pada media OF akan menentukan kategori bakteri tersebut. Menurut Schaad *et al.* (2001) jika terjadi perubahan warna dari biru menjadi kuning pada media OF, maka mengindikasikan positif untuk pertumbuhan anaerob (terjadi fermentasi atau bersifat fermentatif), jika tidak terjadi perubahan warna dari biru ke kuning mengindikasikan negatif untuk pertumbuhan anaerob (tidak terjadi fermentasi atau bersifat oksidatif).



Gambar 7. Hasil pengujian oksidatif fermentatif isolat bakteri 24 yang bersifat antagonis

Hasil pengujian OF terhadap isolat bakteri 13, 24, 31 dan 32 menunjukkan bakteri termasuk kategori bakteri yang bersifat fermentatif (Gambar 10). Pada media OF yang diberi isolat bakteri antagonis terjadi perubahan warna biru menjadi kuning baik pada media OF yang diberi parafin (kondisi anaerob) atau

media OF yang tidak diberi parafin (kondisi aerob), sedangkan pada media OF perlakuan kontrol tidak terjadi perubahan warna dari warna biru menjadi warna kuning.

#### 4.6.2.3 Pertumbuhan pada Media Yeast Dextrose Carbonate (YDC)

Pertumbuhan di media YDC bertujuan untuk membedakan genus *Pantoea* sp. dan *Erwinia* sp. Berdasarkan pernyataan Schaad *et al.* (2001) pengujian pada media YDC dikatakan bereaksi positif apabila koloni berwarna kuning dan termasuk genus *Pantoea* sp. sedangkan jika koloni bakteri berwarna putih dikatakan bereaksi negatif dan termasuk genus *Erwinia* sp. Pertumbuhan isolat bakteri antagonis di media YDC menunjukkan isolat bakteri 13 dan 24 berwarna kuning, sedangkan isolat bakteri 31 dan 32 berwarna putih. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan isolat bakteri 13 dan 24 tergolong dalam genus *Pantoea* sp., sedangkan isolat bakteri 31 dan 32 tergolong genus *Erwinia* sp.



Gambar 8. Koloni bakteri antagonis pada media YDC

#### 4.6.3 Identifikasi Bakteri Antagonis Hasil Seleksi

##### 1. Isolat Bakteri 13

Isolat bakteri 13 memiliki bentuk bulat, warna koloni putih keruh, tepiannya tidak rata, dan elevasi rata. Pada pengujian fisiologi dan biokimia diketahui bakteri tersebut tergolong gram negatif berbentuk batang, bersifat fermentatif dan berwarna kuning pada media YDC. Menurut Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan Laboratory Guide for Identification of Bacteri (Schaad *et al.*, 2001), bakteri dengan ciri-ciri tersebut dikelompokkan dalam genus *Pantoea* sp.

## 2. Isolat Bakteri 24

Isolat bakteri 24 memiliki bentuk bulat, warna koloni putih keruh, tepiannya rata, dan elevasi rata. Pada pengujian fisiologi dan biokimia diketahui bakteri tersebut tergolong gram negatif berbentuk batang, bersifat fermentatif dan berwarna kuning pada media YDC. Menurut Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan Laboratory Guide for Identification of Bacteri (Schaad *et al.*, 2001), bakteri dengan ciri-ciri tersebut dikelompokkan dalam genus *Pantoea* sp.

## 3. Isolat Bakteri 31

Isolat bakteri 31 memiliki bentuk bulat, warna koloni putih keruh, tepiannya rata, dan elevasi cembung. Pada pengujian fisiologi dan biokimia diketahui bakteri tersebut tergolong gram negatif berbentuk batang, bersifat fermentatif dan berwarna putih pada media YDC. Menurut Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan Laboratory Guide for Identification of Bacteri (Schaad *et al.*, 2001), bakteri dengan ciri-ciri tersebut dikelompokkan dalam genus *Erwinia* sp.

## 4. Isolat Bakteri 32

Isolat bakteri 32 memiliki bentuk bulat, warna koloni putih bening, tepiannya tidak rata, dan elevasi rata. Pada pengujian fisiologi dan biokimia diketahui bakteri tersebut tergolong gram negatif berbentuk batang, bersifat fermentatif dan berwarna putih pada media YDC. Menurut Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan Laboratory Guide for Identification of Bacteri (Schaad *et al.*, 2001), bakteri dengan ciri-ciri tersebut dikelompokkan dalam genus *Erwinia* sp.

Hasil identifikasi empat isolat bakteri antagonis serasah daun kopi menunjukkan isolat bakteri 13 dan 24 termasuk genus *Pantoea* sp. sedangkan isolat bakteri 31 dan 32 tergolong genus *Erwinia* sp. berdasarkan hasil penelitian tersebut bakteri *Pantoea* sp. dan *Erwinia* sp. hasil eksplorasi memiliki kemampuan untuk menghambat bakteri patogen *Erwinia* sp. penyebab penyakit busuk lunak pada umbi kentang. Dalam penelitian yang dilakukan Moustaine *et al.* (2017) dilaporkan bakteri genus *Pantoea* sp. dan *Erwinia* sp. merupakan bakteri yang dimanfaatkan sebagai PGPR (*Plant Growth Promoting*



*Rhizobacterial*) yang mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman dan mengendalikan patogen penyakit tanaman. Selain itu *Pantoea* sp. juga mampu menghasilkan hormon IAA (*Indole acetic acid*) yang berguna dalam pelarutan fosfat serta memacu pertumbuhan tanaman secara optimal. Penelitian lain juga menyebutkan bakteri genus *Pantoea* sp. juga mampu menyediakan ketersediaan nutrisi makro seperti nitrogen, fosfor dan kalium serta mampu meningkatkan kandungan klorofil (Han *et al.*, 2005). Bakteri bergenus *Pantoea* sp. yaitu *Pantoea dispersa* dilaporkan oleh Zhang dan Birch (1997) mampu mengendalikan *Xanthomonas albilineans* pada tanaman tebu, selain itu juga terdapat *Pantoea agglomerans* yang memiliki kemampuan mengendalikan *Erwinia amylovora* pada tanaman krisan (Anderson *et al.*, 2004).

Bakteri genus *Erwinia* sp. juga memiliki kemampuan dalam melarutkan fosfat (Ivanova *et al.*, 2006) yang mana fosfat berperan perbesaran sel, penyimpanan energi, respirasi dan aktivitas fisiologi seperti pembelahan sel, fotosintesis, perkembangan akar yang baik serta konsumsi karbohidrat (Sagervanshi *et al.*, 2012). Genus bakteri *Erwinia* sp. juga merupakan penghasil senyawa siderofor (Leong dan Neilands, 1982) senyawa ini mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman dalam kondisi kadar besi tinggi. Siderofor merupakan senyawa pengelat besi (Fe) yang dapat memfasilitasi transfer Fe dari lingkungan menjadi tersedia bagi tanaman. Senyawa ini diketahui berperan dalam mekanisme pengendalian bakteri patogen tumbuhan (Yasmin, 2009). Maurhofer *et al.* (1998) menemukan siderofor dari *P. fluorescens* galur P3 yang mengekspresikan gen pengendali biosintesis asam salisilat. Siderofor ini dapat memperbaiki mekanisme induksi ketahanan sistemik tembakau dan tomat terhadap *Tobacco Necrosis Virus* (TNV). Salah satu jenis bakteri genus *Erwinia* sp. yaitu *Erwinia herbicola* memiliki kemampuan mengendalikan *Erwinia amylovora* pada tanaman hawthorn (Wilson *et al.*, 1992).



## V. PENUTUP

### 1.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan adalah :

1. Berdasarkan hasil eksplorasi bakteri serasah daun kopi di UB *Forest* diperoleh 32 isolat bakteri.
2. Terdapat 11 isolat bakteri serasah daun kopi UB *Forest* yang bersifat antagonis terhadap *Erwinia* sp. penyebab penyakit busuk lunak pada umbi kentang dan empat isolat memiliki indeks penghambatan tertinggi yaitu isolat 13, 24, 31 dan 32.
3. Dua isolat bakteri serasah daun kopi UB *Forest* yang bersifat antagonis yaitu isolat 31 dan 32 mampu menghambat pertumbuhan *Erwinia* sp. dan menekan perkembangan penyakit busuk lunak pada umbi kentang dengan kemampuan lebih baik dari bakterisida berbahan aktif streptomisin sulfat 20%.
4. Hasil identifikasi morfologi, fisiologi dan biokimia terhadap empat isolat bakteri serasah daun kopi UB *Forest* yang memiliki sifat antagonis terbaik terhadap *Erwinia* sp. menunjukkan bahwa isolat 13 dan 24 tergolong genus *Pantoea* sp. sedangkan isolat 31 dan 32 termasuk genus *Erwinia* sp.

### 5.2 Saran

Penelitian ini merupakan studi tahap awal mengenai potensi bakteri serasah daun kopi UB *Forest* yang bersifat antagonis terhadap *Erwinia* sp., sehingga untuk menyempurnakan penelitian tersebut perlu dilakukan beberapa penelitian lanjutan yaitu identifikasi empat isolat bakteri serasah daun kopi UB *Forest* yang bersifat antagonis terhadap patogen *Erwinia* sp. penyebab penyakit busuk lunak pada umbi kentang dan perlu dilakukan adanya penelitian lanjutan dengan uji coba potensi bakteri dalam skala lapang.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G.N. 2004. *Plant Pathology*. Fifth Edition. San Diego, California: Academic Press.
- Akpor, O.B., A.L. Okoh, dan G.O. Babalola. 2006. Culturable Microbial Population Dynamics During Decomposition of *Theobroma cacao* Leaf Litters in a Tropical Soil Setting. *Jurnal Of Biological Science* 6(4): 768-774.
- Alam, M.S., P.R. Sarjono, dan A.L.N. Aminin. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Selulase dari Bakteri Selulolitik Termofilik Kompos Pertanian Desa Bayat, Klaten, Jawa Tengah. *Jurnal Sains dan Matematika*, 21(2): 48-53.
- Anderson, L.M., V.O. Stockwell, dan J.E. Loper. 2004. An Extracellular Protease of *Pseudomonas fluorescens* Inactivates Antibiotics of *Pantoea agglomerans*. *Phytopathology* 94(11): 1228–1234.
- Ardi, R. 2009. Kajian aktivitas Mikroorganisme tanah pada berbagai kelerengan dan kedalaman hutan alam. Skripsi. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Arwiyanto, T. 1997. Pengendalian Hayati Penyakit Layu Bakteri Tembakau:1. Isolasi Bakteri Antagonis. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia* 3(1): 54-60.
- Azizah, N. N. 2015. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penyebab Busuk Lunak. Malang: Hama Penyakit Tumbuhan FPUB.
- BPS. 2017. Luas Panen, Produksi dan Produktivitas Kentang (Online). <https://www.bps.go.id>. (Diakses 20 Oktober 2017).
- Brenner, D.J. , D.R. Boone., G.M. Garrity, R.W. Castenholz, N.R. Krieg, dan J.T. Staley. 2005. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Second Edition. Springer. United States of America.
- Collmer, A., dan N.T. Keen. 1986. The role of pectic enzymes in plant pathogenesis. *Annual Review of Phytopathology* 24, 383–409.
- Cook, R.J. 1991. Broad concept and application. *Proc. of the International Seminar on the Control of Plant Disease and Virus Vector*. Food and Fertilizer Technology Centre for the Asian and Pacific Region, Taipei pp. 1– 9.
- Desmawati. 2006. Pemanfaatan Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) Prospek yang Menjanjikan dalam Berusahatani Tanaman Holtikultura. Tesis. Bogor : Sekolah Pascasarjana IPB
- Dian, O. 2016. UB Sinergi dengan Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan Bangun Hutan Pendidikan (Online). <https://prasetya.ub.ac.id/press/UB-Sinergi-dengan-Kementerian-Lingkungan-Hidup-dan-Kehutanan-Bangun-Hutan-Pendidikan-17905-id.html>. (Diakses 20 Januari 2018).
- Dias, C., A. Aires, dan M. Jose. 2014. Antimicrobial Activity of Isothiocyanate from Cruciferious Plants against Methicillin –Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Molecular Sciences*. 15: 19552-19561.
- Dinas Komunikasi dan Informatika Kabupaten Malang. 2016. Wilayah Desa Tawangargo (Online). <http://desa-gajahrejo.malangkab.go.id/news>. (Diakses 20 Januari 2018).

- El-Hamshary, O.I.M., dan A.A. Khattab. 2008. Evaluation of antimicrobial activity of *Bacillus subtilis* and *Bacillus cereus* and their fusants against *Fusarium solani*. Res. J. Cell Mol. Biol., 2: 24-29.
- Fahy, P., dan G.P. Persley. 1983. Plant Bacterial Disease : A Diagnostic Gide. Academic Press. Sydney. P 363.
- Fanani, A.K., A.L. Abadi, dan L.Q. Aini. 2015. Eksplorasi Bakteri Patogen pada Beberapa Spesies Tanaman Kantong Semar (*Nepenthes* sp. ). HPT 3(3): 104–110.
- Global Village Translations. 2007. Pengelolaan Keanekaragaman Hayati. Jakarta: Persemakmuran Australia.
- Golinska P., L. Ahmed, dan D. Wang. Goodfellow M. *Streptacidiphilus durhamensis* sp. nov., isolated from a spruce *Forest* soil. Antonie Van Leeuwenhoek. 2013;104:199–206.
- Gunawan, O.S. 2006. Pengaruh Cahaya dan Tempat Penyimpanan Bibit Kentang di Gudang Terhadap Serangan Hama Penyakit Gudang. Bandung.
- Habazar, T., dan Yaherwandi. 2006. Pengendalian Hayati Hama dan Penyakit Tumbuhan. Andalas University Press. Padang. hal 100-137.
- Haggag W.M., dan H.A.A. Mohamed. 2007. Biotechnological aspects of microorganism used in plant biological control. *World J. Agric. Sci.* 3(6): 771–776.
- Han H.S., dan K.D. Lee. 2005. Plant Growth Promoting Rhizobacteria Effect on Antioxidant Status, Photosynthesis, Mineral Uptake and Growth of Lettuce under Soil Salinity. pages 211-212.
- Handiyanti, M. 2010. Potensi *Bacillus* Spp. Dan *Pseudomonas Fluorescens* Sebagai Agens Pengendali Penyakit Busuk Lunak Bakteri (*Erwinia carotovora*) Pada Anggrek Phalaenopsis. Skripsi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Haque, M.M., M.S. Kabir, L.Q. Aini, H. Hirata, dan S. Tsuyumu. 2009. SlyA, a MarR family transcriptional regulator, is essential for virulence in *Dickeya dadantii* 3937. *J. Bacteriol.* 191(17): 5409–5418.
- Hartus, T., 2001. Usaha Pembibitan Kentang Bebas Virus. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Hélias, V., D. Andrivon, dan B. Jouan. 2000. Development of symptoms caused by *Erwinia carotovora* ssp. *atroseptica* under field conditions and their effects on the yield of individual potato plants. *Plant Pathol.* 49(1): 23–32.
- Herigstad, B., M. Hamilton, dan J. Heersink. 2001. How to optimize the drop plate method for enumerating bacteria. *J Microbiol Methods* 44, 121–129.
- Holt, J. G., N. R. Krieg, P. H. A. Sneath, J. T. Staley, dan S. T. William. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th ed. Maryland, USA: William and Wilkins.
- Istifadah, N., M. Umar, S. Sudarjat, dan L. Djaya. 2017. Kemampuan Bakteri Endofit Akar dan Ubi Kentang untuk Menekan Penyakit Busuk Lunak (*Erwinia carotovora* pv. *carotovora*) pada Ubi. *Agrikultura* 27(3): 167–172.

- Ivanova, R., D. Bojinova, dan K. Nedialkova. 2006. Rock phosphate solubilization by soil bacteria. *Journal of The University of Chemical Technology and Metallurgy*, 41(3): 297-302.
- Jackson, G. 2010. Diseases of vegetable crops in Australia. Editors, Denis Persley, Tony Cooke, Susan House. CSIRO Publishing; and from Bacterial rots of potato tubers Plant Factsheets. The Food and Environment Research Agency, Sand Hutton, York, UK.
- Javandira, C. 2013. Pengendalian Penyakit Busuk Lunak Umbi Kentang (*Erwinia carotovora*) Dengan Memanfaatkan Agens Hayati *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescens*. J. HPT 1 (1)(April): 90–97.
- Kawaguchi, A., K. Inoue, dan Y. Ichinose. 2008. Biological Control of Crown Gall of Grapevine, Rose, Tomato by Nonpathogenic *Agrobacterium vitis* Strain VAR03-1. *Journal Phytopathology*. Vol. 98, No.11.
- Kloepper, J.W. 1993. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria as Biological Control Agents. In: F.B. Metting (ed.) p. 255-274. *Soil Microbial Ecology*. Marcel Dekker, Inc, New York.
- Kucharek, T. dan J. Bartz. 2000. Bacterial Soft Rots of Vegetables and Agronomic Crops. *Plant Pathology Fact*. (Online). <http://plantpath.ifas.ufl.edu/media/plantpathifasufledu/factsheets/pp0012.pdf>. (Diakses 27 Januari 2018).
- Leiwakabessy, C. 2011. Respons Hipersensitif (HR). Bogor: Departemen Proteksi Tanaman Program Studi Fitopatologi Institut Pertanian Bogor.
- Leong, S.A., dan J. Neilands. 1982. Production Microbial Species by Phytopathogenic and The Production of Siderophores Agents. A. 218(2): 351–359.
- Ling, J.R. 1990. Digestion of bacterial cell walls in the rumen. In : *The Rumen Ecosystem* (Eds : S. Hoshino, R. Onodera, H. Minato and H. Itabashi) pp. 83-90. Japan Scientific Societies Press, Tokyo and Springer- Verlag, Berlin.
- Manus, P.S., dan A.L. Jones. 1994. Epidemiology and genetic analysis of streptomycin-resistant *Erwinia amylovora* from Michigan and evaluation of oxytetracycline for control. *Phytopathology*; 84:627-33.
- Mason, C. F. 1977. *Decomposition. The Institute of Biology's Studies in Biology* No. 74. Edward Arnold. London.
- Mastuti, R. 2016. *Metabolit Sekunder dan Pertahanan Tumbuhan*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Maurhofer, M., C. Reimann, P. Schmidli-Sacherer, S. Heep, dan G. Defago. 1998. Salicylic acid biosynthetic genes expressed in *Pseudomonas fluorescens* strain P3 improve the induction of systemic resistance in tobacco against Tobacco necrosis virus. *Phytopathology* 88:678- 684.
- Meryandini, A., W. Widosari, B. Maranatha, T. C. Sunarti, N. Rachmania, dan H. Satria. 2009. Isolasi bakteri selulolitik dan karakterisasi enzimnya. *Makara Sains* 13(1): 33-38.
- Minamiyama, H., M. Shimizu, H. Kunoh, T. Furumai, Y. Igarasi, H. Onaka, dan R. Yoshida. 2003. Multiplication of isolate R-5 *Streptomyces galbus* on



- rhododendron leaves and its production of cell walldegrading enzymes. *Journal Gen. Plant Pathology* 69: 65-70.
- Mindawati, N., dan Pratiwi. 2008. Kajian penetapan daur optimal hutan tanaman *Acacia mangium* ditinjau dari kesuburan tanah. *Jurnal Penelitian Hutan Tanaman*. Vol.V.No.2 ; P. 109-118.
- Moustaine, M., R. Elkahkahi, A. Benbouazza, R. Benkirane, dan E.H. Achbani. 2017. Effect of plant growth promoting rhizobacterial (PGPR) inoculation on growth in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and characterization for direct PGP abilities in Morocco. *Int. J. Agric. Biotechnol.* 2(2).
- Pitojo, S. 2008. Benih Kentang. Yogyakarta: Kanisius.
- Prajapat, R., A. Marwal, dan P.N. Jha. 2013. Review article *Erwinia carotovora* associated with potato : A critical appraisal with respect to Indian perspective . *Int. J. Curr. Microbiology Appl. Sci.* 2(10): 83–89.
- Prescott, C.E., L.L. Blevins, dan C. Staley. 2004. Litter Decomposition in British Columbia Forests: Controlling Factors and Influences of Forestry Activities. *Journal of Ecosystems and Management* 5(2):44-57.
- Prihatiningsih, N., T. Soedarmono, Arwiyanto, dan B. Hadisutrisno. 2006. Pengendalian hayati penyakit layu bakteri kentang dengan *Bacillus* spp.: 1. Eksplorasi dan Pengujian in vitro dan rumah plastik. *Agrosains* 8: 27-31.
- Priou, S., A.P. Aley, E. Chujoy, B. Lemaga, dan E. Frenh. 2011. Integrated Control of Bacterial Wilt of Potato. <http://www.cipotato.org/csd/materials/Publications/guiaing.pdf>. (Diakses 22 Oktober 2017).
- Purwakusumah, E.D. 2010. Perbandingan Fermentasi Antibiotik oleh *Streptomyces* sp. S-34 dan Dua Rekomendasi pada Beberapa Medium. Jurusan Kimia : Institut Teknologi Bandung.
- Rahayu, S.A., dan M.H. Gumilar. 2017. Uji Cemarkan Air Minum Masyarakat Sekitar Margahayu Raya Bandung Dengan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*. *Ijst* 4.
- Sabdaningsih, A., A. Budiharjo, dan E. Kusdiyantini. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Morfologi Koloni Bakteri Asosiasi Alga Merah (Rhodophyta) Dari Perairan Kutuh Bali. *Biologi* 2(2): 11–17.
- Sagervanshi, A., P. Kumari, A. Nagee, dan A. Kumar. 2012. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from Anand agriculture soil. *International Journal of Life Science and Pharma Research*, 2(3): 256-266.
- Samadi, Budi. 2007. Kentang dan Analisis Usaha Tani. Yogyakarta: Kanisius.
- Schaad, N. W., J. B. Jones, dan W. Chun. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogen Bacteria. 3<sup>rd</sup> ed. APS Press. St.Paul Minnesota.
- Seebold, K.W. 2014. Blackleg and Bacterial Soft Rot of potato. : 1–2.
- Semangun, H. 2006. Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta. 754 hal.
- Setiadi. 2009. Budidaya Kentang. Penebar Swadaya. Jakarta

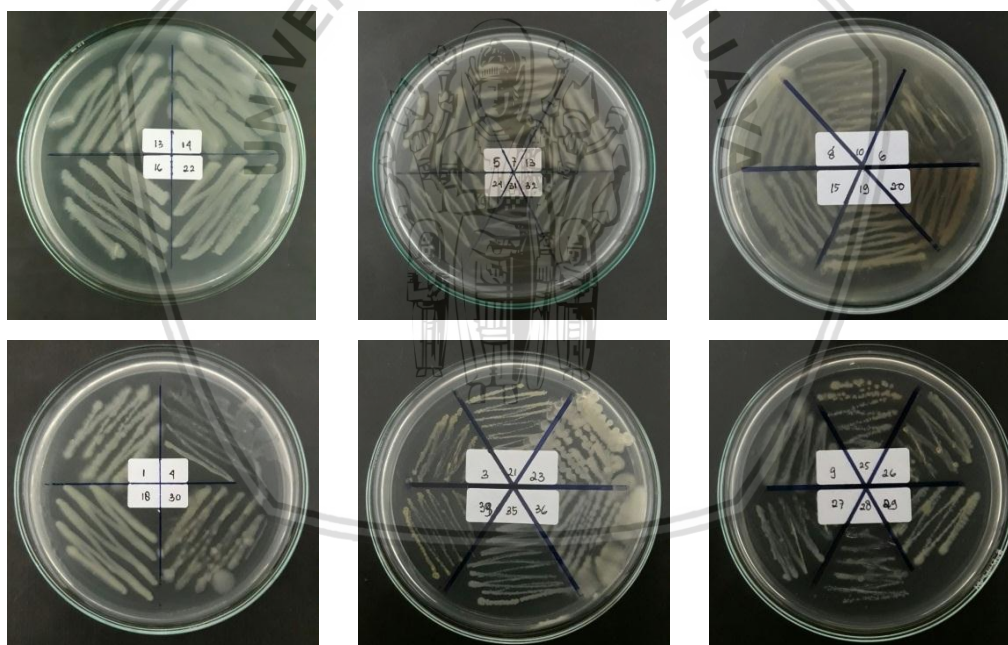
- Sigee, D. C. 1993. *Bacterial Plant Pathology: Cell and Molecular Aspect*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Soedradjad, R. 1999. *Lingkungan Hidup (Suatu Pengantar)*. Universitas Indonesia. Press: Jakarta.
- Soesanto, L. 2008. *Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman, Suplemen Ke Gulma dan Nematoda*. Rajawali Pers. Jakarta.
- Stockwell, V.O., dan B. Duffy. 2012. Use Antibiotics in Plant Agricultural. *Reff. Sci. Tsch. Off. Int. Epiz.*;31(1):199-210.
- Štursová, M., L. Žifčáková, M.B. Leigh, R. Burgess, dan P. Baldrian. 2012. Cellulose utilization in Forest litter and soil: Identification of bacterial and fungal decomposers. *FEMS Microbiol. Ecol.* 80(3): 735–746.
- Sumarlan. 2017. Sekeping Informasi dari "UB Forest" Malang (Online). <http://bp2sdm.menlhk.go.id/pusrenbang/index.php/profil/renbang-sdm-aparatur/24-sekeping-informasi-dari-ub-Forest-malang>. (Diakses 20 Januari 2018).
- Sunarjono, H. 2007. *Petunjuk Praktis Budidaya Kentang*. Jakarta: PT Agromedia Pustaka.
- Suryanto, D. 2009. Prospek Keanekaragaman Hayati Mikroba (Microbial Bioprospecting) Universitas Sumatera Utara (Online). [https://www.researchgate.net/publication/47513354\\_Prospek\\_Keanekaragaman\\_Hayati\\_Mikroba\\_Microbial\\_Bioprospecting\\_Sumatera\\_Utara](https://www.researchgate.net/publication/47513354_Prospek_Keanekaragaman_Hayati_Mikroba_Microbial_Bioprospecting_Sumatera_Utara) (Diakses 27 Juni 2018).
- Tombe, M. 2002. Potensi agensi hayati dalam pengendalian penyakit tanaman berwawasan lingkungan dan peranannya dalam meningkatkan sektor agribisnis. hlm. 13–34. *Prosiding Seminar Nasional PFI Komda Purwokerto*.
- Wahyudi, T.A., S. Meliah, dan A.A. Nawangsih. 2011. *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* bakteri penyebab penyakit hawar daun pada padi: Isolasi, Karakteristik, dan Telaah Mutagenesis Dengan Tranposon. *Makara Sains*, 15(1): 89-96.
- Wilson, M. 1992. Interactions Between *Erwinia herbicola* and *E. amylovora* on the Stigma of Hawthorn Blossoms. *Phytopathology* 82(9): 914.
- Yasmin, F., R. Othman, K. Sijam, dan M.S. Saad. 2009. Characterization of beneficial properties of plant growth-promoting rhizobacteria isolated from sweet potato rhizosphere. *African Journal of Microbiology Research* 3(11): 815- 821.
- Zhang, L., dan R.G. Birch. 1997. The gene for albicidin detoxification from *Pantoea dispersa* encodes an esterase and attenuates pathogenicity of *Xanthomonas albilineans* to sugarcane. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94(18): 9984–9989.



## LAMPIRAN



Gambar Lampiran 1. Hasil purifikasi *Erwinia* sp. pada media *nutrient agar*



Gambar Lampiran 2. Hasil perbanyakan 32 isolat bakteri serasah daun kopi

Tabel Lampiran 1. Analisis ragam indeks penghambatan empat isolat bakteri antagonis serasah daun kopi setelah inokulasi 24 jam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung		F-tabel		P-value
						5%	1%	
Perlakuan	4	0.13	0.03	17.51	* *	2.87	4.43	0.000
Galat	20	0.04	0.00					
Total	24	0.17			KK =	5.08%		

Tabel Lampiran 2. Analisis ragam indeks penghambatan empat isolat bakteri antagonis serasah daun kopi setelah inokulasi 48 jam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F-hitung		F-tabel		P-value
						5%	1%	
Perlakuan	4	0.15	0.04	20.17	* *	2.87	4.43	0.000
Galat	20	0.04	0.00					
Total	24	0.19			KK =	5.17%		

Tabel Lampiran 3. Analisis ragam indeks penghambatan empat isolat bakteri antagonis serasah daun kopi setelah inokulasi 72 jam

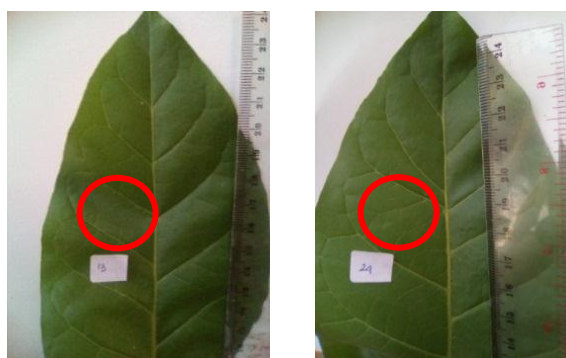
Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung		F-tabel		P-value
						5%	1%	
Perlakuan	4	0.44	0.11	89.54	* *	2.87	4.43	0.000
Galat	20	0.02	0.00					
Total	24	0.47			KK =	4.39%		

Tabel Lampiran 4. Analisis ragam massa busuk lunak umbi kentang pada uji penekanan penyakit busuk lunak setelah inokulasi 7 hari

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F-hitung		F-tabel		P-value
						5%	1%	
Perlakuan	5	0.14	0.03	41.10	* *	2.77	4.25	0.000
Galat	18	0.01	0.00					
Total	23	0.15			KK =	11.15%		







a

b



c

d

Gambar Lampiran 7. Hasil pengujian hipersensitif isolat bakteri antagonis serasah daun kopi pada tanaman tembakau. (a) isolat 13; (b) isolat 24; (c) isolat 31; (d) isolat 32.



a

b

c



d

e

f

Gambar Lampiran 8 Hasil uji penekanan penyakit busuk lunak pada umbi kentang setelah 7 hari inokulasi (a) isolat 13; (b) isolat 24; (c) isolat 31; (d) isolat 32; (e) bakterisida streptomisin sulfat 20%; (f) aquades